

---

# Entwicklung von $\beta$ -Peptiden und $\beta$ -Strukturbildnern als potenzielle Orientierungsmedien in der kernmagnetischen Resonanzspektroskopie

Vom Fachbereich Chemie  
der Technischen Universität Darmstadt



TECHNISCHE  
UNIVERSITÄT  
DARMSTADT

zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktor-Ingenieurs (Dr.-Ing.)

genehmigte

Dissertation

vorgelegt von

Dipl.-Ing. (FH) Witali Blum

aus Astrachan (Russland)

Referent: Prof. Dr. Christina M. Thiele

Korreferent: Prof. Dr. Katja Schmitz

Tag der Einreichung: 11 März 2015

Tag der mündlichen Prüfung: 11 Mai 2015

Darmstadt 2015

D17

---





---

*Für meine Familie*

*(und natürlich auch für mich)*

---

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Frau Prof. Dr. Christina M. Thiele im Zeitraum vom Dezember 2010 bis Mai 2015 im Fachbereich Chemie am Clemens-Schöpf-Institut für Organische Chemie und Biochemie der Technischen Universität Darmstadt angefertigt.

---

## Danksagung

Es gibt viele Menschen, Freunde und Kollegen denen ich danken möchte, weil sie auf die eine oder andere Art mir geholfen haben, die vorliegende Arbeit fertig zu stellen und das Promotionsstudium erfolgreich zu überstehen. Die Liste der Angesprochenen ist lang und sollte ich jemanden vergessen, zu erwähnen, so steht keine böse Absicht dahinter sondern ein in letzter Zeit zu stark beanspruchtes Gedächtnis.

Frau Prof. Dr. C. M. Thiele danke ich für die Gelegenheit, eine interessante Forschungsarbeit anfertigen zu dürfen. Dank ihrer Hilfe, ihrem Engagement, ihrer Geduld sowie ihrer Begeisterung ist keine Herausforderung zu groß gewesen. Sie hat stets ein offenes Ohr für die Probleme ihrer Mitarbeiter und unterstützt sie dabei, eigene Lösungen zu finden. Das herzliche, vertrauensvolle Arbeitsklima in Frau Thieles Arbeitsgruppe machte die zahlreichen Arbeitsstunden im Labor gut erträglich.

Mein Dank gilt den Mitgliedern der NMR-Abteilung der TU Darmstadt unter der Leitung von Herr PD Dr. R. Meusinger für die Aufnahme zahlreicher NMR-Spektren. Ebenso bin ich der MS-Abteilung und insbesondere Frau C. Rudolph für die Messung vieler MS-Spektren dankbar. Darüber hinaus möchte ich Herrn Philipp Czechowski aus dem AK Reggelin meinen Dank dafür aussprechen, dass er die CD-Spektren der untersuchten Verbindungen aufgenommen und seine Erfahrungen in der HPLC-Analytik großzügig mit mir geteilt hat. Natürlich danke ich Herrn PD Holger Seelert für die MALDI-TOF-Spektren sowie seine Hilfe bei der Suche nach Peptiden, die für die vorgelegte Arbeit relevant sein könnten.

Insbesondere danke ich Frau Dr. Yulia Moskalenko-Sera für ihre Unterstützung bei der Synthese sowie die interessanten Diskussionen, die neue Ideen mit sich gebracht haben. Sie ist eine sehr angenehme Laborkollegin gewesen.

Meinen Kollegen Herrn Andreas Kolmer und Herrn Dr. Volker Schmidts schulde ich großen Dank, weil sie mir den praktischen Umgang mit dem NMR-Spektrometer beigebracht haben. Zusätzliche danke ich Andreas für seine Freundschaft und die gemeinsame Zeit im Labor, die uns viele Gemeinsamkeiten und Lacher hat finden lassen.

Ich stehe bei Frau Stefanie Hansmann und Herrn Lukas Kaltschnee in großer Schuld dafür, dass sie die vorgelegte Arbeit zur Korrektur gelesen und mir viele hilfreiche Tipps zur Gestaltung wie auch zum Inhalt gegeben haben. Ein "Danke" reicht schon fast nicht aus, um meine Wertschätzung für diesen Freundschaftsdienst auszudrücken.

Ich bedanke mich bei meinem Bachelor-Studenten Max Nau sowie meiner Praktikantin im Vertiefungspraktikum Anina Leipold, die viele Ideen und Versuche unter meiner Anleitung ausprobiert und somit zum Inhalt der vorliegenden Arbeit beigetragen haben.

Frau Michaela Standhardt danke ich für die gute Zusammenarbeit im Labor und ebenso für die große Hilfe bei der Beschaffung und Organisation dringend benötigter Chemikalien wie auch Materialien.

Frau Michaela Fröhlich spreche ich meinen Dank dafür aus, dass sie stets mit Rat und Tat zur Seite stand, wenn es darum ging bürokratische Hürden zu überwinden. Der AK Thiele profitiert von ihrem Organisationstalent.

---

Herrn Dr. C. Nils Meyer danke ich für seine Fach- und Menschenkenntnis, die ihn zu einem fähigen Ansprechpartner für Lehraufgaben an der TU Darmstadt gemacht haben. Mit seiner Hilfe war das kalte Wasser namens "Praktikum", in das ein neuer Doktorand gestoßen wird, nur noch lauwarm.

Ich bedanke mich bei den noch nicht erwähnten Kollegen Herrn Maic Fredersdorf, Herrn Jonas Kind, Frau Mira Köberle, Herrn Martin Leyendecker, Frau Susann Weißheit, Herrn Ferdinand Heimroth, Frau Christiane Wolff, Frau Dr. Alesia Tietze sowie den Ehemaligen Herrn Dr. Viktor Bagutski, Herrn Dr. Benjamin Böttcher, Herrn Dr. Tobias Montag, Herrn Dr. Andreas Marx und Herrn Matthias Hinzer für die tolle gemeinsame Zeit und wünsche ihnen viel Erfolg auch in Zukunft.

Frau Vera König aus dem AK Reggeln bin ich dankbar, dass sie mir als Vermieterin über die Dauer meines Aufenthaltes in Darmstadt ein Obdach geboten hat und dazu eine gute Nachbarin gewesen ist.

Herrn Thomas Birr möchte ich meinen Dank dafür äußern, dass er ein guter Freund ist und mir über schwere Zeiten hinweg geholfen hat. Die gemeinsamen Gespräche im Ratskeller (Darmstadt) sind für mich immer ein Highlight gewesen.

Schließlich danke ich meiner Familie und meiner Frau Maria für ihre Unterstützung, die mich aus so manchem Motivationsloch wieder herausgeholt hat, sodass ich die vorliegende Arbeit endlich fertig stellen konnte.

---

*"Dass ich erkenne, was die Welt  
Im Innersten zusammenhält..."*  
(Faust I, Johann Wolfgang von Goethe)



---

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1. EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>2. STAND DER FORSCHUNG</b>	<b>5</b>
2.1. Strukturaufklärung mittels NMR	5
2.1.1. Konstitutionsbestimmung in organischen Verbindungen	5
2.1.2. Konfigurations- und Konformationsbestimmung	6
2.2. Residuale Dipolare Kopplung (RDC)	8
2.3. Flüssigkristalline Phasen	13
2.4. Bekannte Orientierungsmedien	16
2.5. Selbstassemblierung	18
2.6. Foldamere	21
2.7. $\beta$ -Peptide	22
2.7.1. Sekundärstruktur von $\beta$ -Peptiden	22
2.7.2. Helix eines $\beta$ -Peptids	23
2.7.3. Andere Sekundärstrukturen eines $\beta$ -Peptids	26
2.7.4. $\beta$ -Aminosäuren	26
2.7.5. Synthese von $\beta$ -Aminosäuren	28
2.8. $\beta$ -Strukturbildner	36
2.9. Chemische Synthese von Peptiden	39
2.10. Chemische Synthese von $\beta$ -Peptiden	41
<b>3. AUFGABENSTELLUNG</b>	<b>45</b>
<b>4. ERGEBNISSE UND DISKUSSION</b>	<b>47</b>
4.1. Charakterisierung ausgewählter $\beta$ -Peptide	47
4.1.1. ACHC-basiertes $\beta$ -Peptids 66: $6-\beta^3\text{hY}-[\text{ACHC-ACHC-}\beta^3\text{hK}]_3\text{-NH}_2$	47
4.1.2. $\beta$ -Peptid 67: $\text{Ac}-[\beta^3\text{hK}]_7\text{-NH}_2$	56
4.1.3. $\beta$ -Peptid 68: $\text{H}-[\beta^3\text{hE(Bzl)}-\beta^3\text{hE(Bzl)}-\beta^3\text{hK}]_4\text{-OH}$	59
4.1.4. $\beta$ -Peptid 69: $\text{H}-[\beta^3\text{hE(Bzl)}-\beta^3\text{hE(Bzl)}-\beta^3\text{hK}]-[\beta^3\text{hE(Bzl)}]_3-[\beta^3\text{hE(Bzl)}-\beta^3\text{hE(Bzl)}-\beta^3\text{hK}]_2\text{-OH}$	65
4.1.5. $\beta$ - $\gamma$ -Peptid 70: $6-\beta^3\text{hY}-[\text{Ada}^{\text{Gly}}-\text{Ada}^{\text{Gly}}-\beta^3\text{hK}]_3\text{-NH}_2$	68
4.2. Charakterisierung ausgewählter $\beta$ -Strukturbildner	72
4.2.1. $\beta$ -Strukturbildner 72, $\text{P}_{11}\text{-II}$ : $\text{Ac-Q-Q-R-F-Q-W-Q-F-E-Q-Q-NH}_2$	73
4.2.2. Modifikation des $\beta$ -Strukturbildners 72, $\text{P}_{11}\text{-II}$ : $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_2\text{-Q-Q-R-F-Q-W-Q-F-E-Q-Q-NH}_2$	77
<b>5. FAZIT UND AUSBLICK</b>	<b>81</b>

<b>6. MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>83</b>
6.1. Circular dichroismus-Spektroskopie (CD)	83
6.2. Drehwertmessung	83
6.3. Dünnschichtchromatographie	83
6.4. Fourier-Transform-Infrarot-Spektroskopie (FTIR)	83
6.5. Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)	84
6.6. Kernspinresonanz-Spektroskopie (NMR)	84
6.7. Massenspektrometrie (MS)	85
6.8. UV/VIS-Spektroskopie	85
6.8.1. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Fmoc-Beladungsbestimmung mit Piperidin <sup>[290, 311]</sup>	85
6.8.2. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Fmoc-Beladungsbestimmung mit DBU <sup>[302]</sup>	86
6.9. Allgemeine Arbeitsvorschrift :TNBS-Test auf freie Amino-Gruppen	86
6.10. Ultraschall	87
6.11. Vortex	87
6.12. Zentrifugation	87
6.13. Gefriertrocknung	87
6.14. Schütteln	88
6.15. Schutzgas	88
6.16. Rotationsverdampfer	88
6.17. Automatisierte Peptidsynthese	88
6.18. Lösemittel	88
6.19. Reagenzien	89
6.20. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Harzbeladung 2CTC-Harz manuell	89
6.21. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Harzbeladung 2CTC-Harz automatisiert im Peptidsynthesizer Liberty	90
6.22. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Harzbeladung Rink-Amid-AM-(PEG)-Harz manuell/automatisiert	91
6.23. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Automatisierte Peptidsynthese am Fmoc-Rink-Amid-AM-Harz	91
6.24. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Automatisierte Peptidsynthese am 2CTC-Harz	92
6.25. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Manuelle Peptidsynthese am Fmoc-Rink-Amid-AM-Harz	92

6.26.	Allgemeine Arbeitsvorschrift: Manuelle Peptidsynthese am 2CTC-Harz	93
6.27.	Synthese des $\beta$ -Peptids 66: $6-\beta^3\text{hY}-[\text{ACHC-ACHC-}\beta^3\text{hK}]_3-\text{NH}_2$	95
6.28.	Synthese des $\beta$ -Peptides 67: $\text{Ac}-[\beta^3\text{hK}]_7-\text{NH}_2$	96
6.29.	Synthese des $\beta$ -Peptides 68: $\text{H}-[\beta^3\text{hE(Bzl)}-\beta^3\text{hE(Bzl)}-\beta^3\text{hK}]_4-\text{OH}$	97
6.30.	Synthese des $\beta$ -Peptides 69: $\text{H}-[\beta^3\text{hE(Bzl)}-\beta^3\text{hE(Bzl)}-\beta^3\text{hK}]-[\beta^3\text{hE(Bzl)}]_3-[\beta^3\text{hE(Bzl)}-\beta^3\text{hE(Bzl)}-\beta^3\text{hK}]_2-\text{OH}$	98
6.31.	Synthese des $\beta$ - $\gamma$ -Peptides 70: $6-\beta^3\text{hY}-[\text{Ada}^{\text{Gly}}-\text{Ada}^{\text{Gly}}-\beta^3\text{hK}]_3-\text{NH}_2$	99
6.32.	Synthese des $\beta$ -Strukturbildners 72, P <sub>11</sub> -II: $\text{Ac-Q-Q-R-F-Q-W-Q-F-E-Q-Q-NH}_2$	100
6.33.	Synthese des modifizierten $\beta$ -Strukturbildners 72a: $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{O}_2\text{-Q-Q-R-F-Q-W-Q-F-E-Q-Q-NH}_2$	101
6.34.	Synthese und Charakterisierung eines Polyprolins aus 70 Aminosäuren	102
6.35.	Synthese von Diazald® 76 – <i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -nitroso- <i>p</i> -toluolsulfonamid	103
6.36.	Synthese von Diazomethan 78	105
6.37.	Allgemeine Arbeitsvorschrift: Synthese von $\beta$ -Aminosäuren	107
6.38.	Synthese von Fmoc- $\beta^3$ -L-Homotyrosin(tBu) 79	108
6.39.	Synthese von Fmoc- $\beta^3$ -Homoglutaminsäure(Bzl) 80	109
6.40.	Synthese von Fmoc- $\beta^3$ -Homolysin(Boc) 81	110
6.41.	Synthese der Fmoc-(1S,2S)-2-Aminocyclohexancarbonsäure (ACHC) 86	111
7.	<b>SCHEMAVERZEICHNIS</b>	<b>121</b>
8.	<b>TABELLENVERZEICHNIS</b>	<b>123</b>
9.	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>124</b>
10.	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>129</b>

---

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

<b>6</b>	Hexancarbonsäureamid (am Peptid)
<b>AA</b>	amino acid (eng.), Aminosäure
<b>Ac</b>	Acetyl-
<b>ACHC</b>	(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> )- <i>trans</i> -2-Aminocyclohexan-1-carbonsäure
<b>Ada<sup>Gly</sup></b>	(1 <i>r</i> ,3 <i>s</i> ,5 <i>R</i> ,7 <i>S</i> )-3-Aminoadamantan-1-carbonsäure
<b>ADEQUATE</b>	Adequate Double Quantum Transfer Experiment
<b>Boc</b>	<i>tert</i> -Butyloxycarbonyl
<b>ber.</b>	berechnet
<b>br</b>	breit
<b>ca.</b>	circa
<b>CD</b>	Circular Dichroism
<b>COSY</b>	Correlation Spectroscopy
<b>d</b>	Dublett
<b>Da</b>	Dalton
<b>DIPEA</b>	<i>N,N</i> -Diisopropylethylamin
<b>DMSO</b>	Dimethylsulfoxid
<b>DQ</b>	Double Quantum
<b>EE</b>	Essigester
<b>eq</b>	Äquivalent
<b>ET AL.</b>	et alii/aliae
<b>Et<sub>2</sub>O</b>	Diethylether
<b>Fmoc</b>	Fluorenylmethoxycarbonyl
<b>g</b>	Gramm
<b>gem.</b>	gemessen
<b>ggf.</b>	gegebenenfalls
<b>HATU</b>	<i>O</i> -(7-Azabenzotriazol-1-yl)- <i>N,N,N',N'</i> -tetramethyluronium-hexafluorophosphat
<b>HBTU</b>	<i>N,N,N',N'</i> -Tetramethyl- <i>O</i> -(1 <i>H</i> -benzotriazol-1-yl)uronium hexafluorophosphat
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Wasser
<b>HMBC</b>	Heteronuclear Multiple Bond Correlation
<b>HMQC</b>	Heteronuclear Multiple Quantum Coherence
<b>HOBt</b>	1-Hydroxybenzotriazol
<b>HOESY</b>	2D Heteronuclear NOESY
<b>HPLC</b>	High Performance Liquid Chromatography
<b>HSQC</b>	Heteronuclear Single Quantum Coherence
<b>Hz</b>	Hertz
<b>INADEQUATE</b>	Incredible Natural Abundance Double Quantum Transfer Experiment
<b>K</b>	Kelvin

---

---

<b>kHz</b>	Kilohertz
<b>L</b>	Liter
<b>LC</b>	liquid crystalline (eng.), flüssig-kristallin
<b>LLC</b>	lyotropic liquid crystalline (eng.), lyotrop flüssig-kristallin
<b>m</b>	mol
<b>M</b>	mol/L
<b>m%</b>	Massenprozent
<b>MALDI</b>	Matrix-assisted Laser Desorption Ionisation
<b>MASS</b>	Magic Angle Spinning
<b>MD</b>	Moleküldynamik
<b>MeCN</b>	Acetonitril
<b>mg</b>	Milligramm
<b>MHz</b>	Megahertz
<b>min</b>	Minute
<b>mL</b>	Milliliter
<b>mmol</b>	Millimol
<b>Mtt</b>	4-Methyltrityl
<b>NMR</b>	Nuclear Magnetic Resonance, Kernspinresonanz
<b>NOE</b>	Nuclear Overhauser Effect (Enhancement)
<b>NOESY</b>	Nuclear Overhauser Effect (Enhancement) Correlation Spectroscopy
<b>PA</b>	Polyacetylene
<b>PAA</b>	Polyacrylamid
<b>PAN</b>	Polyacrylnitril
<b>Pbf</b>	2,2,4,6,7-Pentamethyldihydrobenzofuran-5-sulfonyl
<b>PBLG</b>	Poly-γ-benzyl-L-glutamat
<b>PCBL</b>	Poly-ε-carbobenzyloxy-L-lysin
<b>PDMS</b>	Polydimethylsiloxan
<b>PE</b>	Petrolether
<b>PELG</b>	Poly-γ-ethyl-L-glutamat
<b>PG</b>	Polyguanidine
<b>PIC</b>	Polyisocyanide
<b>PMMA</b>	Polymethylmethacrylat
<b>ppm</b>	Parts per Million
<b>PS</b>	Polystyrol
<b><i>p</i>-TsOH</b>	<i>p</i> -Toluolsulfonsäure
<b>PU</b>	Polyurethan
<b>PVAc</b>	Polyvinylacetat
<b>PyBOP</b>	Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat
<b>q</b>	Quartett
<b>qui</b>	Quintett
<b>rad</b>	Radiant, Bogenmaß
<b>RDC</b>	Residual Dipolar Coupling, Residuale Dipolare Kopplung

---

<b>ROESY</b>	Rotating-frame Nuclear Overhauser Effect Correlation Spectroscopy
<b>RP</b>	Reversed Phase
<b>s</b>	Singulett
<b>SAG</b>	strain induced alignment in a gel
<b>SANS</b>	Small Angle Neutron Scattering
<b>SAXS</b>	Small Angle X-Ray Scattering
<b>STEM</b>	Scanning Transmission Electron Microscopy
<b>t</b>	Triplett
<b>tBu</b>	<i>tert</i> -Butyl
<b>TFA</b>	Trifluoressigsäure
<b>TFE</b>	Trifluorethanol
<b>THF</b>	Tetrahydrofuran
<b>TMS</b>	Tetramethylsilan
<b>TNBS</b>	2,4,6-Trinitrobenzolsulfonsäure
<b>TOCSY</b>	Total Correlation Spectroscopy
<b>TOF</b>	Time of Flight
<b>UV</b>	Ultra-Violett
<b>v/v</b>	Volumenanteil
<b>VASS</b>	Variable Angle Sample Spinning
<b>VIS</b>	Visible
<b>vol%</b>	Volumenprozent
<b>ZQ</b>	Zero Quantum



---

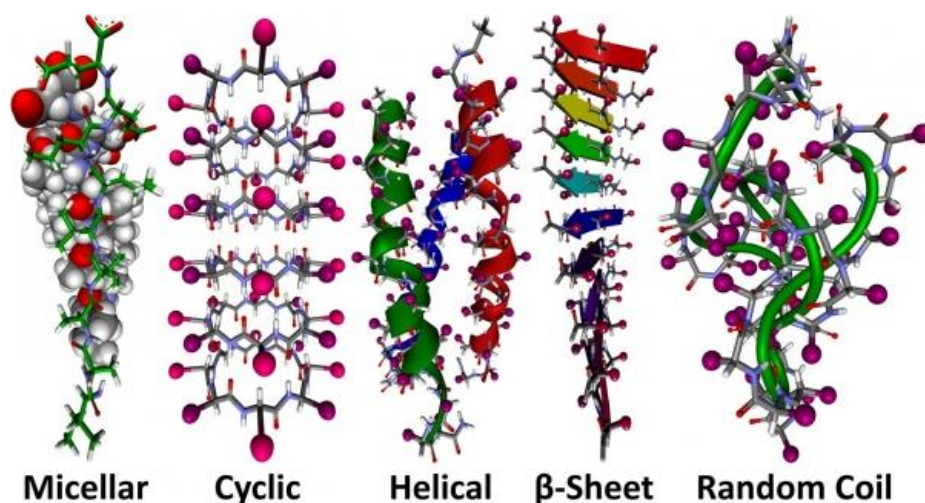
## 1. Einleitung

---

Seit der Entdeckung des Insulins durch BANTING und BEST im Jahre 1921 hat die pharmazeutische Entwicklung sowie Anwendung von Peptiden einen sehr großen Stellenwert in der Forschung erhalten. Dabei ist die Beziehung zwischen der chemischen Struktur dieser Moleküle sowie ihrer biologischen Aktivität nur eine der wesentlichen Fragen, die es zunächst zu beantworten gilt. Danach folgt die nicht minder geringe Herausforderung, die interessanten Stoffe in großem Maßstab herzustellen.<sup>[1-5]</sup>

Aktuell sind Peptide auch als Materialien interessant, denn diese Stoffklasse bildet definierte Überstrukturen aus, die unterschiedliche, reproduzierbare, mechanische wie auch physikalische Eigenschaften aufweisen. Damit ist der Einsatz von Peptiden nicht nur als Wirkstoff, sondern auch als ein potientiell Transportgerüstmolekül für andere biochemisch wirksame Substanzen wie Zellen, Gene, Proteine und sonstige Arzneimittel denkbar. So wurden beispielsweise Fibrinogen-basierte Materialien von RAJANGAM ET AL. erfolgreich auf diese Art und Weise eingesetzt.<sup>[6]</sup>

Zunächst beobachtete und nun dank MD-Simulation vorhersagbare Sekundärstrukturen sind  $\alpha$ -Helix,  $\pi$ -Helix,  $3_{10}$ -Helix, Polyprolin-Helix,  $\beta$ -Schleife,  $\gamma$ -Schleife sowie  $\beta$ -Faltblatt mit allen ihren Unterarten.<sup>[7]</sup> Besonders bemerkenswert ist dabei das Phänomen, dass viele der genannten Strukturen zur Selbstorganisation neigen und Nano-Formationen im jeweiligen geeigneten Lösungsmittel ausbilden.<sup>[8]</sup>



**Abb. 1-1** Beispiele für Sekundärstrukturen von Peptiden; Abbildung entnommen aus <sup>[9]</sup>.

$\beta$ -Peptide, die aus entsprechenden  $\beta$ -Aminosäuren bestehen, erweitern die Varianzbreite an möglichen Sekundärstrukturen und zeigen ein erhöhtes Bestreben zur Selbstassemblierung.<sup>[10, 11]</sup> Darüber hinaus sind sie in der Lage, die biologischen Funktionen von den aus  $\alpha$ -Aminosäuren bestehenden Analoga zu imitieren, wobei sie aufgrund ihrer Beständigkeit gegen enzymatischen Abbau länger im Körper wirksam bleiben können.<sup>[12]</sup>



---

Vor allem die Überstrukturen dieser Stoffklasse sowie deren Fähigkeit flüssigkristalline Phasen auszubilden<sup>[13, 14]</sup> sind für die vorliegende Arbeit interessant, denn sie zeigen interessante physikalische Effekte, die sich für die organische Strukturanalytik mittels Kernmagnetischer Spinresonanz (NMR) nutzen lassen sollten.

SAUPE ET AL. konnten im Jahre 1963 zeigen, dass kleine Moleküle, die in einem nematischen Flüssigkristall gelöst worden sind, eine bevorzugte Orientierung in Lösung annehmen. Durch die so induzierte Bewegungsanisotropie wurden zusätzliche Informationen in der NMR mithilfe von dipolaren Kopplungen geliefert.<sup>[15]</sup> Diese neue Methode vereinte die Vorteile der Festkörper-NMR, nämlich Aussagen zu Winkeln wie auch Bindungslängen machen zu können, und der Lösungs-NMR, scharfe Signale ohne Überlagerung zu erhalten.

Allerdings war die Orientierung der Zielmoleküle in der nematischen Phase zu stark, sodass deren dipolare Kopplungen im kHz-Bereich die Spektren dominierten. Eine Extraktion der interessanten Parameter war folglich nur für kleine, symmetrische Moleküle unter Zuhilfenahme von Simulationen möglich. Erst die Entwicklung von besonderen Orientierungsmedien, die eine schwache Orientierung des Analyten induzierten, machte die Nutzung sogenannter residualer dipolarer Kopplungen (RDC) in der Größenordnung der skalaren Kopplung gebräuchlich, da mit deren Hilfe direkt auswertbare Spektren erhalten wurden.<sup>[16]</sup>

Die in der Literatur am häufigsten anzutreffenden Orientierungsmedien für Messungen von RDCs sind zum einen lyotrope flüssigkristalline Phasen (LLC) aus gelösten hochmolekularen Verbindungen wie Polyacetylenen<sup>[17]</sup> oder Homopolypeptiden<sup>[18-20]</sup> und zum anderen anisotrop gequollene Gele.<sup>[21-23]</sup> Beide Stoffklassen besitzen jedoch einige Nachteile. Die Präparation von gelartigen Medien gestaltet sich oftmals als mechanisch anspruchsvoll und die Gele haben eine lange Quellzeit. Flüssigkristalline Phasen benötigen dagegen Polymere mit einem sehr hohen Molekulargewicht (>200.000 Da), damit aufgrund schnellerer Relaxation keine Signale des Mediums im NMR-Spektrum auftreten. Darüber hinaus müssen sich die Makromoleküle in gängigen organischen Lösemitteln lösen, wobei zum Erreichen des Flüssigkristallzustandes häufig eine hohe Konzentration (ca. 10 bis 20 Gewichtsprozent) benötigt wird.

$\beta$ -Peptide sind vielversprechende Kandidaten für die gestellten Anforderungen an ideale Orientierungsmedien in der NMR, denn ihre Überstrukturen in Lösung sind mobil genug, um eingebrachte Moleküle nur schwach auszurichten. Sie sind über ihre Seitenketten sowie ihren N-Terminus nahezu beliebig funktionalisierbar, womit die Kompatibilität zu anderen Solventen erzeugbar sein sollte. Da die einzelnen Aminosäuren bis auf wenige Ausnahmen selbst Stereozentren besitzen und viele Sekundärstrukturen von Peptiden in Lösung ebenfalls mindestens ein weiteres Chiralitätselement aufweisen, ist eine Enantiodifferenzierung eines optisch aktiven Analyten denkbar. Ein Beispiel für die gewünschte Anwendung zeigt die Veröffentlichung von THIELE und GELLMAN, in der ein mit *n*-Hexansäure *N*-acyliertes  $\beta$ -Peptid-Decamer beschrieben wird, das überwiegend aus der konformationell eingeschränkten, zyklischen  $\beta$ -Aminosäure (1*S*,2*S*)-*trans*-2-Aminocyclohexan-1-carbonsäure (ACHC) aufgebaut ist.<sup>[14]</sup> Es bildet bereits ab einer geringen kritischen Konzentration von nur einem Massenprozent eine lyotrope flüssigkristalline Phase aus und die isotropen sowie anisotropen Messungen des darin orientierten Analyten Prolin lieferten genügend RDCs für eine sinnvolle Auswertung. Darüber hinaus gibt es Anzeichen für eine Enantiodifferenzierung in den unterschiedlichen RDCs der Prolin-Enantiomere, die in Zukunft eine Unterscheidung der absoluten Konfiguration von Stereozentren ermöglichen könnte.

---

Besonders die Tatsache, dass bereits eine geringe Menge an  $\beta$ -Peptid ausreicht, um eine LLC-Phase zu erzeugen, erweist sich als ein nicht zu unterschätzender Vorteil, denn das Orientierungsmedium ist aufgrund der Selbstassemblierung zu zusammenhängenden Überstrukturen in den erfassten NMR-Spektren nahezu unsichtbar und überlagert somit keine Signale des Analyten.

Außerdem besteht die hohe Wahrscheinlichkeit, dass flexible Moleküle, die bei einer solchen geringen kritischen Konzentration untersucht werden, ihre natürlich Konformation in Lösung einnehmen. Zusätzlich lässt die kurzkettige Struktur dieses  $\beta$ -Peptids die Vermutung zu, dass die Synthese einfacher durchzuführen ist als beispielsweise die eines Homopolypeptids mit einer Molmasse von  $10^6$  Da.

Jedoch hat das literaturbekannte ACHC-Peptid den Nachteil, dass es nur in  $H_2O$  als Orientierungsmedium funktioniert. Für andere gängige NMR-Lösemittel wie beispielsweise  $CDCl_3$  müssen andere Derivate hergestellt werden. Einen Ansatz dazu liefern SEEBACH ET AL; da  $\beta$ -Peptide, die aus den leicht funktionalisierbaren Homologen der natürlichen  $\alpha$ -Aminosäuren bestehen, ebenfalls eine starke Selbstassemblierung zu helikalen Überstrukturen zeigen.<sup>[11, 24]</sup>

Neben den  $\beta$ -Peptiden sind amphiphile  $\alpha$ -Peptid-Oligomere bekannt, die eine starke Tendenz zur Selbstorganisation in Lösung aufweisen.<sup>[25]</sup> Die beobachtete Überstruktur ist meistens eine Abart des  $\beta$ -Faltblatts, sodass sich die Bezeichnung  $\beta$ -Strukturbildner für diese Molekülklasse anbietet. AGGELI ET AL. haben beispielsweise ein Peptid hergestellt, das konzentrationsabhängig Fasern bis hin zu flüssigkristallähnlichen Phasen formt.<sup>[25]</sup> Auch diese Peptidklasse ist als ein potenzielles Orientierungsmedium für die NMR interessant.

Ziel der vorliegenden Arbeit war somit, neue LC-Phasen basierend auf  $\beta$ -Peptiden und  $\beta$ -Strukturbildnern herzustellen.



## 2. Stand der Forschung

### 2.1. Strukturaufklärung mittels NMR

Die Kernspinresonanzspektroskopie (NMR) hat sich seit ihrer Entdeckung durch BLOCH<sup>[26]</sup> und PURCELL<sup>[27]</sup> im Jahre 1946 inzwischen als eine Standardmethode der modernen Strukturanalytik fest etabliert. Sie ermöglicht die Bestimmung der Konstitution, Konfiguration und Konformation von Molekülen. Eine Voraussetzung dafür ist, dass die Verbindung von Interesse Atome enthält, die einen von Null verschiedenen Kernspin im Grundzustand sowie ein magnetisches Moment besitzen. Isotope mit einer ungeraden Anzahl von Protonen oder Neutronen sind geeignete Kandidaten für die Aufnahme von NMR-Spektren. Die natürliche Häufigkeit dieser Elemente sowie ihre relative Empfindlichkeit bestimmen die Messbarkeit der erhaltenen Ergebnisse. Am besten gehen:  $^1\text{H}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$ .

#### 2.1.1. Konstitutionsbestimmung in organischen Verbindungen

Die Verknüpfung der Atome in einem Molekül wird mithilfe der Zuordnung des zugehörigen Spinsystems ersichtlich. Dieses ist über die chemische Verschiebung ( $\delta$ ) sowie die skalare Kopplung ( $J$ ) zugänglich. Zahlreiche eindimensionale ( $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -NMR) und zweidimensionale NMR-Experimente (COSY<sup>[28, 29]</sup>, TOCSY<sup>[30]</sup>, HSQC<sup>[31]</sup>, HMQC<sup>[32]</sup>, HMBC<sup>[33]</sup>, INADEQUATE<sup>[34]</sup>, ADEQUATE<sup>[35]</sup>) erlauben eine definitive Konstitutionsbestimmung über die Korrelation der erhaltenen Signale zueinander (vgl. Abb. 2-1).

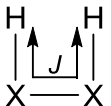
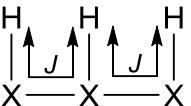

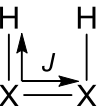
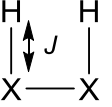
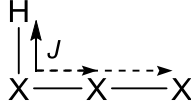
Homonukleare Kopplungen			
			
$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY <sup>[28, 29]</sup>	$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -TOCSY <sup>[30]</sup>	X-X-COSY INADEQUATE <sup>[34]</sup>	X-X-COSY ADEQUATE <sup>[35]</sup>
Heteronukleare Kopplungen			
			
$^1\text{H}$ -X HSQC <sup>[31]</sup> $^1\text{H}$ -X HMQC <sup>[32]</sup>	$^1\text{H}$ -X HMBC <sup>[33]</sup>		

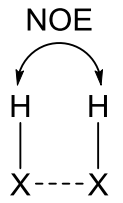
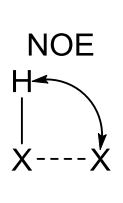
Abb. 2-1 Zweidimensionale NMR-Experimente und zugehörige Korrelationen der skalaren Kopplung.<sup>[36]</sup>

Die Konnektivität der Atome im Molekül ist dank der zweidimensionalen Korrelationen über ein bis vier Bindungen beobachtbar. Während  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -COSY<sup>[28, 29]</sup> wie auch  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$ -TOCSY<sup>[30]</sup> Informationen zu homonuklearen Kopplungen von Protonen liefern, detektieren  $^1\text{H}$ -X-HMQC<sup>[32]</sup> sowie  $^1\text{H}$ -X-HSQC<sup>[31]</sup> Experimente die Verbindung zwischen einem Proton und Heteroatom – meistens  $^{13}\text{C}$  über eine Bindung.

Zusätzlich zeigt ein  $^1\text{H-X-HMBC}^{[33]}$  weiter reichende Kopplungen ( $^nJ_{\text{H-X}}$  mit  $n = 2, 3, 4$ ), die jedoch zur eindeutigen Klärung der Bindungssituation eine Abschätzung der Kopplungskonstante erfordern. Darüber hinaus können Bindungen zwischen Heteroatomen NMR-spektroskopisch erfasst werden, wobei wegen der geringen natürlichen Häufigkeit der jeweiligen Isotope im Molekül große Substanzmengen oder eine lange Messzeit erforderlich sind, um eine annehmbare Messempfindlichkeit zu erreichen. Isotopenangereicherte Verbindungen umgehen dieses Problem, benötigen aber eine Synthese aus teuren Vorstufen.

### 2.1.2. Konfigurations- und Konformationsbestimmung

Sobald die Konstitution eines Moleküls bekannt ist, soll noch dessen dreidimensionale Struktur geklärt werden. Zu diesem Zweck werden Informationen zu Winkeln sowie Abständen benötigt. NOESY<sup>[37]</sup> und ROESY<sup>[38]</sup> sind geeignete NMR-Experimente, um die Distanzen zwischen Protonen bestimmen zu können. Dank des Kern-Overhauser-Effekts (NOE)<sup>[39]</sup> sind räumlich benachbarte, aber nicht notwendigerweise miteinander verknüpfte Kerne identifizierbar. Die Dipol-Dipol-Wechselwirkung macht es möglich, dass longitudinale (NOESY) sowie transversale (ROESY) Kreuzrelaxation bis zu einer Entfernung von 4.5 Å beobachtbar werden. Allerdings wird ein bekannter Referenzabstand benötigt, um die erhaltenen Informationen ins richtige Verhältnis zu setzen. Dementsprechend pflanzt sich die Genauigkeit der Kalibrierung bei großen Molekülen als ein entsprechender Fehler fort. Aufgrund der geringen natürlichen Häufigkeit NMR-aktiver Isotope sind NOE-Experimente zu Heteroatomen wie beispielsweise HOESY<sup>[40, 41]</sup> eher die Ausnahme, aber dennoch möglich.

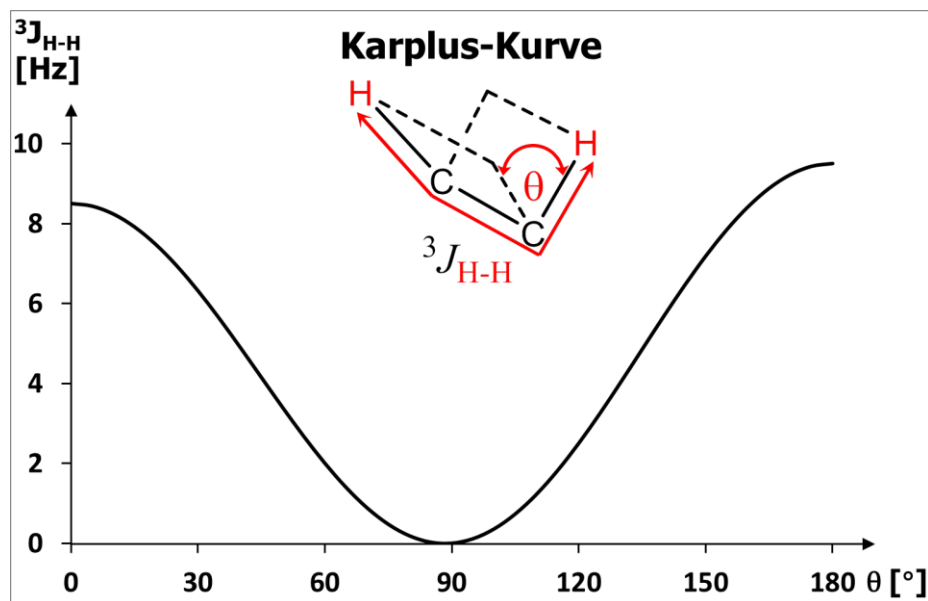
Kreuzrelaxation	
	
$^1\text{H-}^1\text{H NOE}$ 1D/2D-NOESY 1D/2D-ROESY	$^1\text{H-X NOE}$ 1D/2D-HOESY

**Abb. 2-2** Korrelationen über den Raum mittels NOE-NMR-Experimenten.<sup>[36]</sup>

Die Veröffentlichungen von KARPLUS<sup>[42-44]</sup> beschreiben die Abhängigkeit der skalaren  $^3J$ -Kopplung vom Diederwinkel mithilfe einer parametrisierten Gleichung (vgl. **Abb. 2-3**). Diese räumliche Information wird einfach zugänglich und kann genutzt werden, um zusammen mit den Abständen aus NOE-Experimenten die Konformation sowie die relative Konfiguration eines Moleküls zu bestimmen.

Die einfachste Form der parametrisierten KARPLUS-Gleichung lautet:

$$^3J_{\text{H-H}} [\text{Hz}] = A + B \cdot \cos(\theta [\text{rad}]) + C \cdot \cos(2\theta [\text{rad}]) \quad (\text{Gl. 1})$$



**Abb. 2-3** Abhängigkeit der  $^3J_{\text{H-H}}$ -Kopplung vom Diederwinkel mit beispielhaften Parametern:  $A=4.51$ ,  $B=-0.5$ ,  $C=4.5$ .

Die Parameter A, B und C hängen von vielen Faktoren wie beispielsweise der Elektronegativität der Substituenten, der Bindungslänge, der Hybridisierung der Atome oder der Ringspannung ab, sodass sie für jedes System empirisch neu bestimmt werden müssen.

Alternativ zur Ermittlung der Winkel nach der KARPLUS-Methode kann die kreuzkorrelierte Relaxation der Dipol-Dipol-Wechselwirkung von Nullquanten- (ZQ) oder Doppelquantenkohärenz (DQ) genutzt werden, um Projektionswinkel ohne Einschränkung auf drei Bindungen zu erhalten. REIF ET AL. verwenden dieses Verfahren erfolgreich, wobei auch hier die geringe natürliche Häufigkeit der aktiven Isotope eine Einschränkung darstellt.<sup>[45, 46]</sup>

Die Messung von residualen dipolaren Kopplungen (RDC)<sup>[15, 16, 47]</sup> ergänzt die zuvor erwähnten Methoden, macht jedoch eine Orientierung des Analyten in einem geeigneten Medium erforderlich.

## 2.2. Residuale Dipolare Kopplung (RDC)

Die dipolare Kopplung  $D$  beschreibt die magnetische Wechselwirkung zweier Kernspins in einem homogenen Magnetfeld  $B_0$  über den Raum und differenziert sich damit von der skalaren Kopplung  $J$ , die über chemische Bindungen korreliert. Da die beobachteten Effekte von der Entfernung sowie der räumlichen Lage zweier Kopplungspartner abhängen, sind Rückschlüsse auf Abstände wie auch Winkel möglich (vgl. Abb. 2-4).

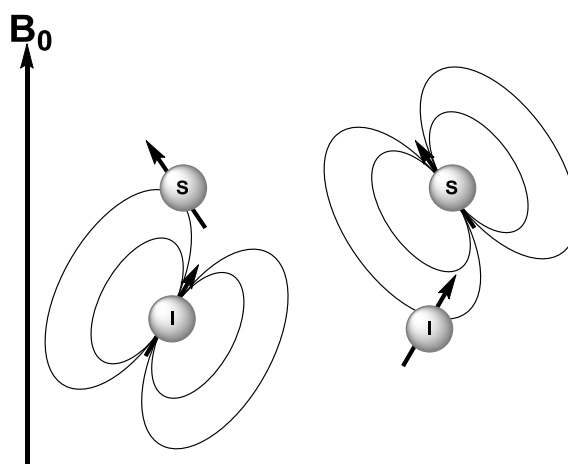
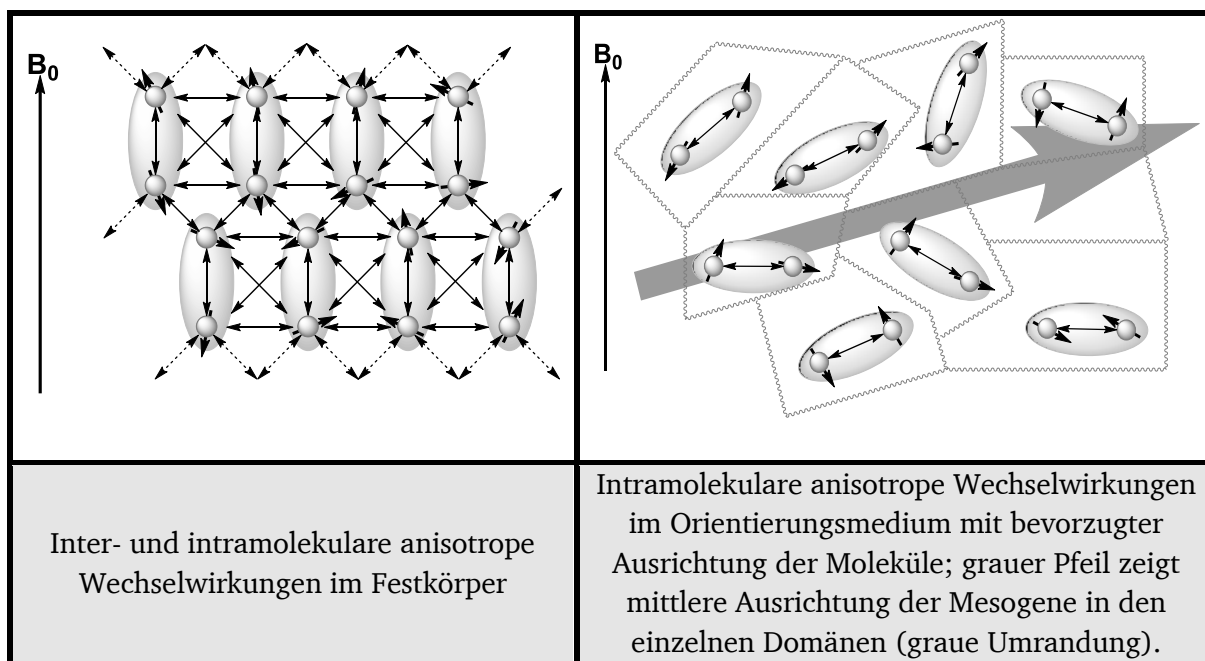


Abb. 2-4 Gegenseitige magnetische Wechselwirkung zweier Kernspins (I und S) im homogenen Magnetfeld  $B_0$ .

Jedoch handelt es sich bei der dipolaren Kopplung um einen anisotropen Parameter, der unter isotropen Bedingungen in Lösung gemittelt wird und somit nicht zugänglich ist. Die richtungsunabhängige Reorientierung des beobachteten Moleküls verhindert eine Erfassung dieser nützlichen Information mit NMR-Standardmethoden.

Wenn mehr als nur die isotrope skalare Kopplung  $J$  - eine indirekte Spin-Spin-Wechselwirkung - sowie der anisotrope Anteil der chemischen Verschiebung gemessen werden sollen, muss der Analyt von Interesse in eine anisotrope - d. h. richtungsabhängige - Umgebung gebracht werden. In einem Festkörper liegt eine starke Richtungsabhängigkeit der bewegungseingeschränkten Moleküle vor, die dazu führt, dass die dipolaren Kopplungen durch inter- wie auch intramolekulare Wechselwirkungen die Spektren dominieren. Das hat zu Folge, dass die beobachteten Signale stark verbreitert werden und die einzelnen Beiträge der Spins nicht mehr einfach differenziert werden können.

Eine Möglichkeit, dieses Problem zu umgehen, ist die Methode der schwachen Orientierung.<sup>[16]</sup> Dabei wird das Molekül von Interesse nicht als ein Festkörper fixiert, sondern in ein Orientierungsmedium eingebracht, das seine Mobilität nur in geringem Maße einschränkt und dennoch eine bevorzugte Ausrichtung im Raum mit sich bringt (vgl. Abb. 2-5). In Folge dessen können intermolekulare Wechselwirkungen zwar immer noch wie im isotropen Fall durch Translation und Rotation im Raum gemittelt werden, intramolekulare anisotrope Effekte sind aber trotzdem skaliert beobachtbar. Weil die ursprüngliche dipolare Kopplung auf einen Restanteil reduziert wird, erhält dieser NMR-Parameter die Bezeichnung residuale dipolare Kopplung (RDC).



**Abb. 2-5** Dipolare Kopplungen im Festkörper (links) und Orientierungsmedium (rechts).

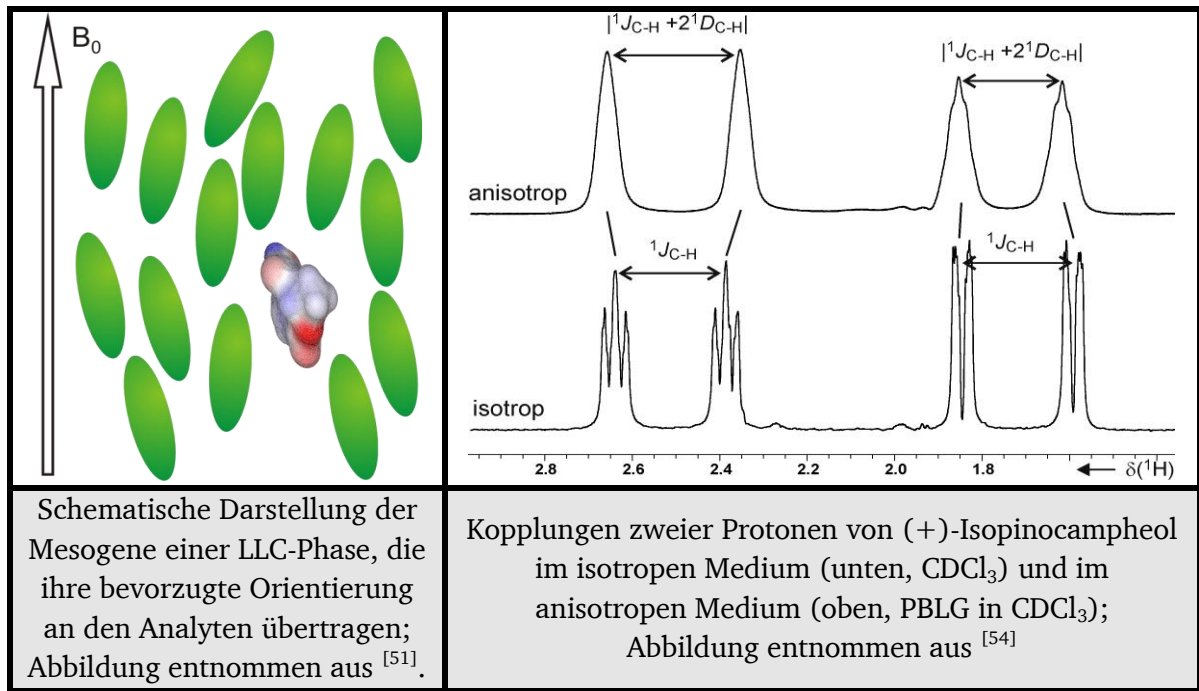
SAUPE ET AL. ermittelten 1963 dipolare Kopplungen von Verbindungen, die in einem nematischen Flüssigkristall gelöst worden sind.<sup>[15]</sup> Allerdings waren zunächst nur einfache, symmetrische Moleküle mit dieser Methode zugänglich, weil die Orientierung im entsprechenden Medium zu stark gewesen ist. Die dipolaren Kopplungen im kHz-Bereich erschwerten ähnlich wie im Fall von Festkörperspektren die Auswertung. Erst verdünnte kristalline Phasen konnten dieses Problem lösen, indem sie an den Zielobjekten eine schwächere Anisotropie induzierten und somit die RDCs auf die Größe von skalaren Kopplungen senkten.<sup>[16]</sup>

Die dipolare Kopplung ( $D$ ) – genauer gesagt die Restkopplung – ist ein Teil der Gesamtkopplung ( $T$ ) und wird in einem anisotropen Medium mit schwachem Orientierungsgrad als zusätzlicher Beitrag zur skalaren Kopplung ( $J$ ) durch eine Veränderung der Aufspaltung der Signale sichtbar. Die zugehörige Gleichung beschreibt den Zusammenhang wie folgt, wobei  $D$  positiv oder negativ sein kann:

$$T = J + 2D \quad (\text{Gl. 2})$$

Um den Wert von  $D$  zu erhalten, muss das NMR-Spektrum eines Analyten sowohl im anisotropen als auch im isotropen Fall aufgenommen werden (vgl. **Abb. 2-6**). Da Orientierungsmedien nur selten ohne größere chemische Eingriffe von einem Zustand in den anderen übergehen können, wird zum Erfassen der isotropen Spektren eine zweite Probe gemessen, die nur den gelösten Analyten enthält. Die sogenannte "Magic-Angle-Spinning"-Technik (MAS), die die anisotropen Anteile eines NMR-Spektrums herausmitteln kann, wird alternativ angewendet.<sup>[48, 49]</sup> Bei einer schnellen Rotation der Probe unter einem Winkel von  $54,74^\circ$  bezüglich des externen Magnetfeld  $B_0$  werden die Peaks schmal und die typische Feinaufspaltung eines isotropen NMR-Spektrums wird sichtbar. Zusätzlich ermöglicht das "Variable-Angle-Sample-Spinning" (VASS) eine induzierte Orientierung winkelabhängig zu skalieren, wenn die gemessenen Kopplungen zu groß sind.<sup>[50-53]</sup>





**Abb. 2-6** Funktionsweise eines LLC-Orientierungsmediums und Auswirkungen auf NMR-Spektren des Analyten.

Für zwei isolierte Spins, **I** und **S**, gilt bei einer direkten Dipol-Dipol-Wechselwirkung der folgende Zusammenhang (vgl. **Abb. 2-7**):

$$D_{I,S} = -\frac{\mu_0 \gamma_I \gamma_S \hbar}{8\pi^2} \left\langle \frac{3\cos^2\theta_{I,S} - 1}{2} \cdot \frac{1}{R_{I,S}^3} \right\rangle \quad (\text{Gl. 3})$$

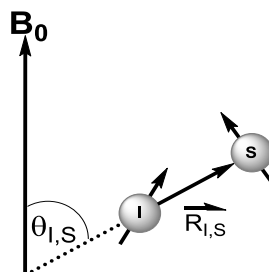
$\mu_0$  = Vakuumpermeabilität

$\gamma_{I/S}$  = gyromagnetisches Verhältnis des Spins I bzw. S

$\hbar = \frac{h}{2\pi}$  reduziertes Plancksches Wirkungsquantum

$\theta_{I,S}$  = Winkel zwischen äußerem Magnetfeld  $B_0$  und Vektor  $\overrightarrow{R_{I,S}}$  der Spins I, S

$R_{I,S} = |\overrightarrow{R_{I,S}}|$  Abstand zwischen Spins I, S



**Abb. 2-7** Spins **I** und **S** im externen Magnetfeld  $B_0$  und ihr Verbindungsvektor.

Die Winkel- sowie Abstandsabhängigkeit von RDCs ist damit ersichtlich (vgl. **Abb. 2-7**), wobei beachtet werden muss, dass die Werte in den spitzen Klammern  $\langle \rangle$  für alle Orientierungen des Verbindungsvektors zeitlich gemittelt sind, während die bevorzugte Ausrichtung, sowie deren Stärke, *a priori* unbekannt ist. Daraus ergibt sich aber gleichzeitig das Problem, dass bei flexiblen Molekülen durch intramolekulare Bewegung ein zusätzlicher Mittelungsprozess in die Berechnung eingeht, der die Auswertung erschwert. Dennoch werden derzeit Methoden erprobt, die eine Strukturbestimmung von flexiblen Molekülen zulassen beziehungsweise die Population unterschiedlicher Konformere in Lösung beschreiben.<sup>[55, 56]</sup>

Im einfachsten Fall starrer Moleküle ist die zeitlich gemittelte Reorientierung aller Vektoren gleich, sodass  $\langle \theta \rangle$  allgemein gültig ist. Dadurch wird ersichtlich, welche Bindungen parallel zueinander liegen, denn sie schließen mit dem äußeren Magnetfeld  $B_0$  jederzeit denselben Winkel ein und besitzen folglich RDCs in gleicher Größe. Bei rigiden Sechsringen ist es so zum Beispiel möglich, axiale von äquatorialen Protonen oder Substituenten zu unterscheiden.<sup>[57]</sup>

Für eine detaillierte Betrachtung von RDCs muss der Mittelungsprozess der Molekülorientierung allerdings mathematisch beschrieben werden. Der Alignmenttensor **A** definiert die resultierende Orientierung in einem entsprechenden Medium. Es besteht folgender Zusammenhang zur dipolaren Kopplung:<sup>[58]</sup>

$$D_{I,S} = -\frac{\mu_0 \gamma_I \gamma_S \hbar}{8\pi^2} \frac{1}{R_{I,S}^3} \vec{r}^T \mathbf{A} \vec{r} \quad (\text{Gl. 4})$$

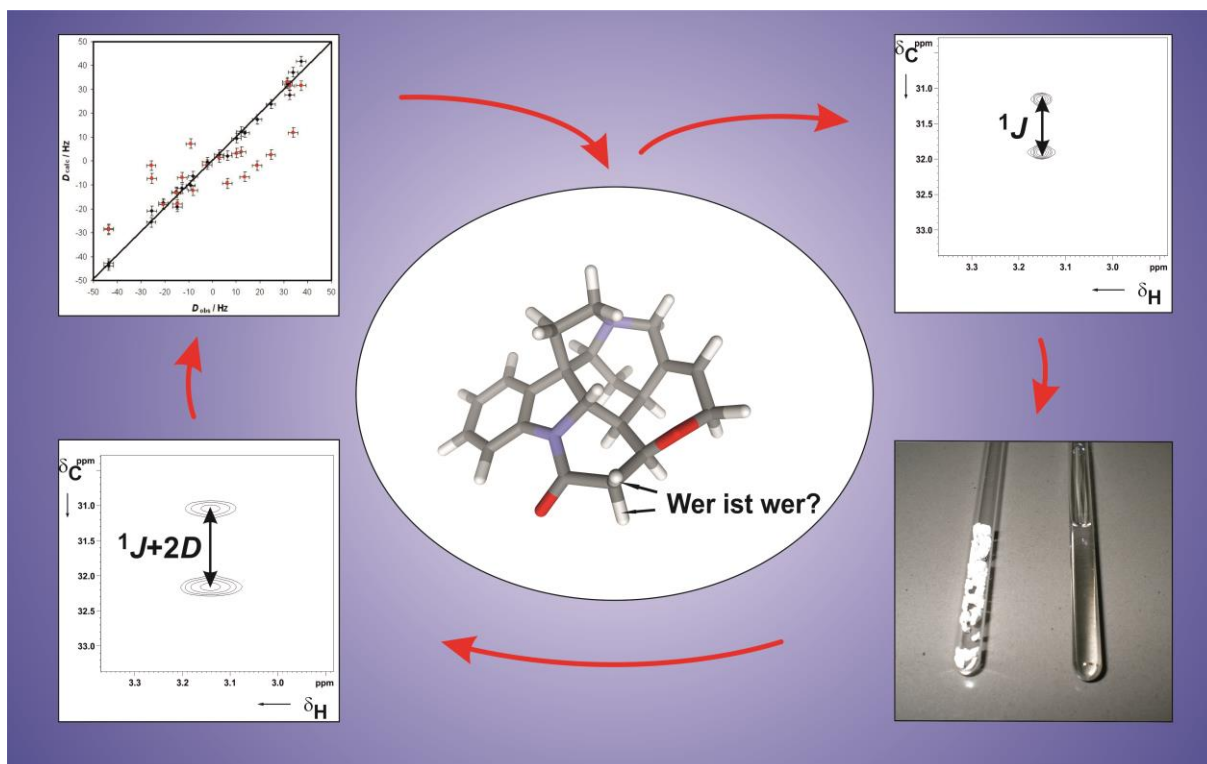
$\vec{r}$  = Einheitsvektor parallel zur Verbindungsachse zwischen Spins I und S

$\vec{r}^T$  = transponierter Einheitsvektor

**A = Alignmenttensor = Orientierungstensor**

Der Alignmenttensor **A** kann mithilfe von **experimentellen RDC-Daten** ( $D_{\text{exp}}$ ) sowie einem **sinnvollen Strukturvorschlag** berechnet werden. Mathematisch handelt es sich bei diesem Tensor um eine symmetrische, spurlose 3x3-Matrix, die fünf unabhängige Elemente enthält. Daraus folgt, dass für die Bestimmung der gemittelten Ausrichtung eines Moleküls im Magnetfeld **mindestens fünf linear unabhängige RDCs** benötigt werden. Für weitergehende Strukturinformationen müssen jedoch mehr als fünf Kopplungen gemessen werden. Ebenso besteht die Möglichkeit, aus einem bekannten Alignmenttensor **A** sowie einem Strukturvorschlag **zurückgerechnete RDCs** ( $D_{\text{theo}}$ ) vorherzusagen, die dann mit den experimentellen RDCs korreliert werden können.

Die Molekülstruktur eines orientierten Analyten wird erhalten, indem zunächst aus experimentellen RDCs sowie einem Strukturvorschlag beispielsweise aus einer Simulation ein Alignmenttensor ermittelt wird. Dabei wird das überbestimmte Gleichungssystem zum Beispiel mithilfe des von V. SCHMIDTS entwickelten Programms **RDC@hotFCHT**<sup>[59]</sup> gelöst und die beste Lösung des Gleichungssystems gesucht. Diese Lösung ergibt  $D_{\text{theo}}$ . Anschließend wird die Berechnung mit einem anderen Strukturvorschlag wiederholt – so lange, bis die beste Übereinstimmung zwischen  $D_{\text{exp}}$  und  $D_{\text{theo}}$  gefunden worden ist. Der zugehörige Vorschlag entspricht dann der passendsten Struktur in Lösung (vgl. **Abb. 2-8**). Bei komplexen Molekülen zeigt sich der Nachteil dieser Methode: Die Verifikation aller möglichen Konfigurationen sowie Konformationen kann viel Zeit in Anspruch nehmen. Außerdem müssen unbedingt mehr als fünf RDCs messbar sein, da sonst jede Berechnung ein ideales Ergebnis liefert. Eine Unterscheidung der Strukturvorschläge wird sonst unmöglich.

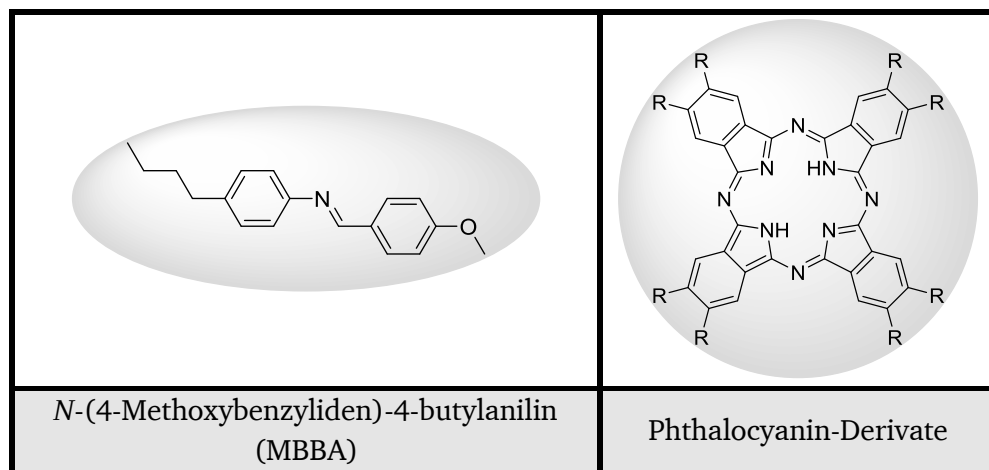


**Abb. 2-8** Beschreibung des Vorgehens beim Messen und Auswerten residualer, dipolarer Kopplungen;  
Abbildung zur Verfügung gestellt von C. THIELE aus dem AK THIELE, TU DARMSTADT.

Wie bereits angedeutet bilden Orientierungsmedien die physikalische und experimentelle Grundlage zur Ermittlung residualer, dipolarer Kopplungen. Insbesondere haben sich die sogenannten flüssigkristallinen Phasen als nützliche Werkzeuge erwiesen, um in organischen Lösemitteln eine anisotrope Umgebung für einen Analyten zu schaffen. Sie bilden das Hauptaugenmerk der vorgelegten Arbeit und werden im Folgenden genauer behandelt.

## 2.3. Flüssigkristalline Phasen

Der Begriff "Flüssigkristall" oder "fließender Kristall" wurde erstmals 1889 von LEHMANN<sup>[60]</sup> verwendet, um den thermodynamisch stabilen Aggregatzustand eines Stoffes zwischen fest und flüssig zu beschreiben. Diese sogenannte flüssigkristalline Phase (LC-Phase) beziehungsweise Mesophase besteht aus Molekülen oder Molekülaggregaten, die als Mesogene bezeichnet werden und eine Formanisotropie aufweisen. Die am häufigsten auftretenden Geometrien der Bausteine sind stäbchenförmig (kalamitisch) oder scheibenförmig (diskotisch) (vgl. **Abb. 2-9**).



**Abb. 2-9** Beispiele für kalamitische (links) und diskotische (rechts) Mesogene eines Flüssigkristalls.<sup>[61]</sup>

Aufgrund ihrer geometrischen Form lagern sich die Mesogene einer LC-Phase mit einer bevorzugten Orientierung zusammen, die mittels eines sogenannten Direktors beschrieben wird.

Allgemein werden flüssigkristalline Phasen in zwei Typen eingeteilt:

- 1.) Thermotrope flüssigkristalline Phasen (TLC-Phasen)
- 2.) Lyotrope flüssigkristalline Phasen (LLC-Phasen)

Wie der Name es bereits andeutet, vollzieht sich die Umwandlung eines thermotropen Flüssigkristalls von fest über flüssigkristallin bis hin zu flüssig bei einer Erhöhung der Temperatur (vgl. **Abb. 2-10**).



$T_m$ : Schmelzpunkt

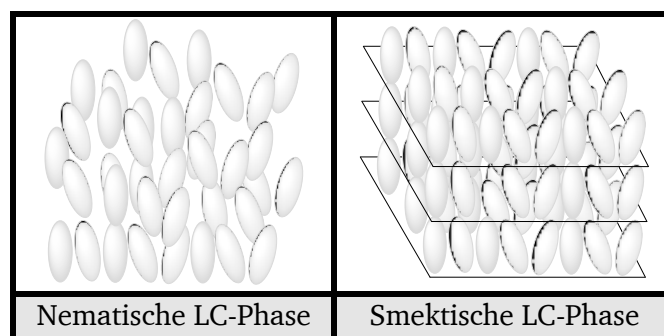
$T_k$ : Klärtemperatur

**Abb. 2-10** Umwandlung eines thermotropen Flüssigkristalls unter Temperaturerhöhung.

Optisch kann dieser Vorgang verfolgt werden, indem ein Feststoff beim Erwärmen ( $T_m$ ) zunächst zu einer trüben Flüssigkeit schmilzt und erst beim Erreichen der Klärtemperatur ( $T_k$ ) zu einer klaren Lösung wird. Das Material zeichnet sich also durch die Eigenschaften einer Flüssigkeit und eines Festkörpers aus.

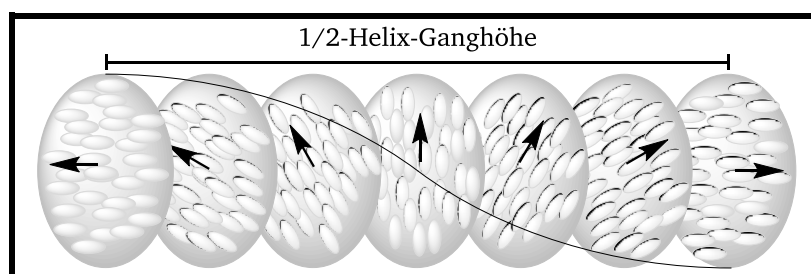
Da eine LLC-Phase zusätzlich zu den Mesogenen ein Lösemittel enthält, bewirkt neben der Temperaturänderung eine Variation der Konzentration eine Ausbildung des flüssigkristallinen Zustandes. Die minimale Konzentration, die zur vollständigen LLC-Phase führt, wird kritische Konzentration genannt und hängt hauptsächlich von den Faktoren: Art der Mesogene, Temperatur sowie Lösemittel ab. Die Aggregation beziehungsweise Selbstassemblierung der Mesogene ist der dabei zugrunde liegende Mechanismus.

Eine weitere Charakterisierungsmöglichkeit für LC-Phasen liefert der Grad der Positionsfernordnung für die Mesogene. Nematische Phasen besitzen nämlich im Bezug darauf überhaupt keine. Smektische Phasen weisen schichtweise eine zweidimensionale Positionsfernordnung auf (vgl. **Abb. 2-11**). Weiterführende Informationen und Details zu diesem Thema sind in der Fachliteratur von STEGEMEYER<sup>[62]</sup> erhältlich.



**Abb. 2-11** Nematische (links) und smektische (rechts) LC-Phasen.

Bei homochiralen Mesogenen kann zusätzlich der Spezialfall auftreten, dass sich eine cholesterische LC-Phase mit helikaler Überstruktur ausbildet. Sie besteht aus gegeneinander verdrehten Schichten, in denen die Mesogene nematisch angeordnet sind (vgl. **Abb. 2-12**). Beim Erwärmen oder Anlegen eines starken, äußeren Magnetfeldes kann diese Phasenmorphologie in den nematischen Zustand übergehen. Zum Beispiel ist für PBLG-basierte LLC-Phasen bekannt, dass sich die flüssigkristalline Überstruktur von cholesterisch zu nematisch in einem homogenen Magnetfeld ändert.<sup>[63]</sup>



**Abb. 2-12** Cholesterische LC-Phase.

---

Die Ausbildung von LLC-Phasen hängt mit der Selbstassemblierung der Mesogene zusammen, sodass dieser Vorgang genauer betrachtet werden muss, um ein gutes Orientierungsmedium für die NMR-Spektroskopie zu finden.

## 2.4. Bekannte Orientierungsmedien

Seit SAUPE ET AL. 1963 das erste flüssigkristalline Orientierungsmedium in der NMR angewandt hatte, das auf einer thermotropen, nematischen Phase basierte,<sup>[15]</sup> sind inzwischen zahlreiche andere Medien entwickelt worden, die eine schwache Orientierung induzieren können und damit die erhaltenen NMR-Spektren direkt auswertbar machen.

Lyotrope, flüssigkristalline Phasen aus gelösten Homopolypeptiden wie Poly- $\gamma$ -benzyl-L-glutamat (PBLG)<sup>[20, 64-66]</sup> oder Poly- $\gamma$ -ethyl-L-glutamat (PELG)<sup>[67, 68]</sup> sind erfolgreich eingesetzt worden, um RDCs zu messen, während mithilfe von Poly- $\epsilon$ -carbobenzyl-L-lysin (PCBLL)<sup>[69-71]</sup> in  $^2\text{H}$ -NMR-Spektren der Enantiomerenüberschusses einer racemischen Mischung bestimmt worden ist. Darüber hinaus gibt es LLC-Phasen, die nicht aus Biopolymeren aufgebaut sind. Dazu zählen die Polyguanidine (PG)<sup>[72]</sup>, die Polyacetylene (PA)<sup>[17, 73]</sup> sowie die Polyisocyanide (PIC)<sup>[74]</sup>. Zusammen decken die genannten Orientierungsmedien mit ihrer Löslichkeit den Großteil aller in der NMR gebräuchlichen, organischen Lösemittel ab und erlauben somit die Untersuchung der Analyten, die sich darin lösen lassen.

Die Vorteile der erwähnten Orientierungsmedien beruhen vor allem auf ihrer Synthesevielfalt. Die Monomere der Makromoleküle sind gut chemisch modifizierbar, sodass sie nach der Polymerisation Makromoleküle mit unterschiedlichen Werkstoffeigenschaften bilden. Auf diese Weise können die Löslichkeit, die induzierte Orientierung sowie die zum Formen einer LLC-Phase benötigte kritische Konzentration beeinflusst werden. Zusätzlich besitzen die Mesogene der LLC-Phasen eine helikale Überstruktur, die eine Enantiodifferenzierung der untersuchten Analyten ermöglicht. Die Probenpräparation ist einfach, denn es müssen lediglich der Analyt, das Orientierungsmedium im trockenen Zustand sowie ein geeignetes Lösemittel in einem NMR-Probenröhrchen mithilfe einer Zentrifuge homogenisiert werden.

LLC-Phasen haben jedoch Nachteile die nicht einfach überwunden werden können. So wird für die kritische Konzentration oftmals eine große Menge an Orientierungsmedium benötigt. Neben der Löslichkeit in unterschiedlichen Lösemitteln limitiert auch die Kompatibilität zum Analyten den Einsatz. Darüber hinaus kann eine zu starke Orientierung bei der niedrigsten erreichbaren kritischen Konzentration nur durch die bereits erwähnte Technik des "Variable-Angle-Sample-Spinning" (VASS) skaliert werden.

Eine Alternative zu den LLC-Phasen bieten die Polymergele. Dank des von GENT ET AL. entdeckten "strain induced alignment in a gel" (SAG)<sup>[75, 76]</sup> ist es möglich, ähnliche Eigenschaften in einem anisotrop gestreckten oder gestauchten, gequollenen Gel zu beobachten wie in einer lyotropen, flüssigkristallinen Phase. Dabei wird die Tatsache ausgenutzt, dass die Hohlräume eines quervernetzten Elastomers, das in einem Gefäß eingeschlossen ist, bei gerichteter Krafteinwirkung ihre Form verändern und ebenso wie die Mesogene eines Flüssigkristalls die Bewegungsfreiheit eines Analyten einschränken können. Die Anisotropie der Hohlräume wird auf den Analyten übertragen und ermöglicht die Messung von RDCs. In diesem Zusammenhang bereits bekannte und verwendete, quervernetzte Polymergele sind: Polystyrol (PS)<sup>[21]</sup>, Polydimethylsiloxan (PDMS)<sup>[22]</sup>, Polymethylmethacrylat (PMMA)<sup>[77]</sup>, Polyacrylamid (PAA)<sup>[78]</sup>, Polyacrylnitril (PAN)<sup>[79]</sup>, Polyvinylacetat (PVAc)<sup>[80]</sup>, Polyurethan (PU)<sup>[81]</sup> und sogar Gelatine<sup>[82]</sup>.

---

Der größte Vorteil der SAG-Medien ist die sehr gute Skalierbarkeit der Orientierung, die über den Quervernetzungsgrad, den Durchmesser des trockenen Polymerstabes sowie die Stauchung oder Streckung reguliert werden kann. Die Kompatibilität zu organischen Lösemitteln ist gegeben und in einigen Fällen wie zum Beispiel bei DMSO sogar besser ausgeprägt als bei LLC-Phasen.

Allerdings benötigt die Probenvorbereitung sehr viel Zeit, denn obwohl nur Analyt, Polymerstick und Lösemittel in ein NMR-Röhrchen gegeben werden, muss Wochen bis Monate bei konstanter Temperatur gewartet werden, bis die Probe das Gleichgewicht erreicht hat. Die Diffusion des Analyten sowie die langsame Quellung sind dabei die limitierenden Faktoren. Ferner besteht wie bei den LLC-Orientierungsmedien das Problem, dass  $^1\text{H}$ -Restsignale des Polymers in entsprechenden Spektren die Signale des Moleküls von Interesse überlagern können. Da die Polymere oftmals radikalisch quervernetzt werden, besteht immer die Möglichkeit, dass im erhaltenen Material Radikalzentren überleben, die mit dem Analyten reagieren. Außerdem sind nur sehr wenige homochirale Polymergele bekannt, die zur Enantiodifferenzierung genutzt werden können.

T. MONTAG aus dem AK THIELE beschäftigte sich mit dem letztgenannten, häufig auftretenden Problem einer fehlenden Enantiodifferenzierung der gelbasierten Orientierungsmedien und fand eine elegante Lösung durch die Kombination der PBLG-Mesogene mit einem quervernetzenden Diamin.<sup>[23, 54]</sup>

Die Entwicklung sowie Untersuchung neuartiger Orientierungsmedien ist auch ein Teil der vorliegenden Arbeit, denn es gibt erste Hinweise, dass  $\beta$ -Peptide sowie  $\beta$ -Strukturbildner zu den bereits aufgezählten Vorteilen existierender LLC-Phasenbildner einige weitere positive Punkte hinzufügen zu können. Im Falle eines  $\beta$ -Peptids aus der Arbeitsgruppe von S. H. GELLMAN hat THIELE erfolgreich gezeigt, dass trotz einer geringen kritischen Konzentration von ca. einem Gewichtsprozent eine stabile LLC-Phase entsteht, die sowohl die Messung von RDCs als auch die Enantiodifferenzierung in einer scalemischen Mischung erlaubt.<sup>[14]</sup> Aufgrund der geringen Menge des Orientierungsmediums sowie der Assoziation der Mesogene zu größeren Überstrukturen waren keine  $^1\text{H}$ -Restsignale in den entsprechenden NMR-Spektren zu sehen.

Da die einzelnen Aminosäuren der Peptide an den Seitenketten derivatisiert werden können, besteht eine große Synthesevielfalt, die beispielsweise dazu genutzt werden sollte, um die Löslichkeit in allen in der NMR gängigen organischen Lösemitteln zu vermitteln. Zusätzlich erweitert das Endcapping des finalen *N*-Terminus eines Peptides die Kombinationsmöglichkeiten mit anderen Molekülen, um so etwa Einfluss auf die Stärke der induzierten Orientierung sowie Selbstassemblierung zu nehmen.<sup>[83]</sup> Im Vergleich zu bereits etablierten LLC-Phasen sollten die Mesogene niedermolekular und vermutlich einfach in großer Reinheit herzustellen sein.



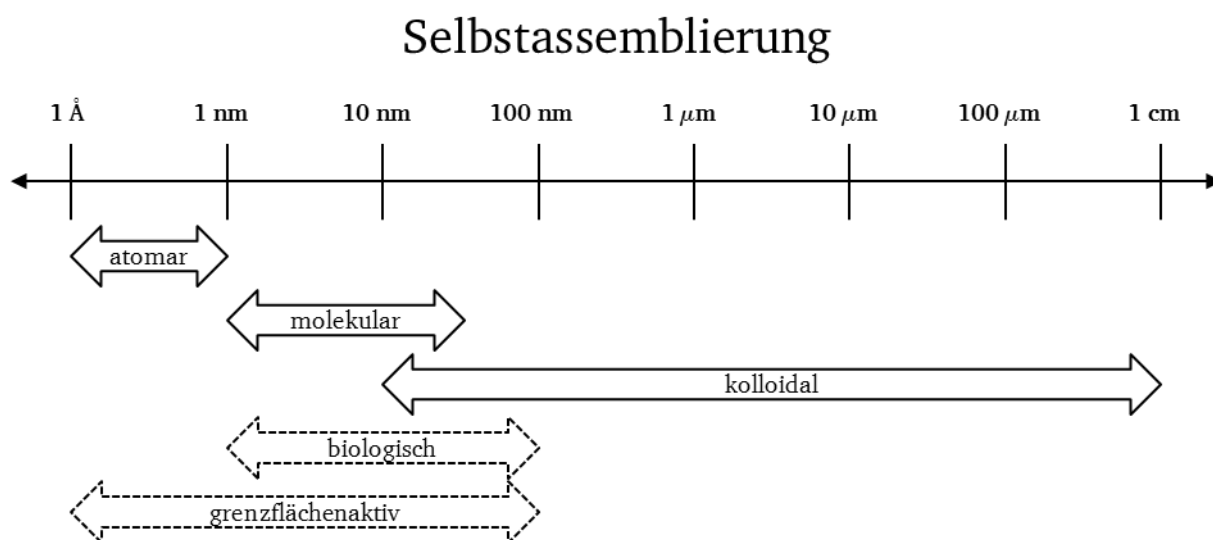
## 2.5. Selbstassemblierung

Das Phänomen der Selbstassemblierung ist sowohl in der Biologie als auch der Chemie lange bekannt, denn bereits vor knapp einem Jahrhundert haben Forscher beobachtet, dass gewisse mikroskopisch kleine Objekte – seien es Zellen oder Moleküle – nach einiger Zeit hierarchische Überstrukturen ausbilden.<sup>[84]</sup> Dank neuer Analyseverfahren, die eine bessere Beobachtung des Prozesses der Selbstorganisation im Detail erlauben, wie beispielsweise Kernspinresonanzspektroskopie (NMR), Rastertransmissionselektronenmikroskopie (STEM), Kristallstrukturanalyse (SAXS), Kleinwinkelneutronenstreuung (SANS) oder Circular-dichroismusspektroskopie (CD) sind in der Kolloid- sowie Polymerchemie große Fortschritte erzielt worden, die Selbstassemblierung zu verstehen und auf Hochleistungsrechenclustern numerisch abzubilden.<sup>[85, 86]</sup>

So wurde von YOON S. LEE<sup>[87]</sup> die folgende Klassifizierung für die Selbstassemblierung eingeführt, wobei die Übergänge fließend sind:

- 1.) Nach System: biologisch oder grenzflächenaktiv
- 2.) Nach Größe: atomar, molekular oder kolloidal

(vgl. Abb. 2-13)



**Abb. 2-13** Klassifizierung der Selbstassemblierung und zugehörige Objektgröße der Aufbauelemente.

Zudem kann zwischen thermodynamisch und kinetisch kontrollierten Prozessen unterschieden werden.

Als Ursache der spontanen oder zielgerichteten Selbstorganisation von Molekülen wird ein Gleichgewicht zwischen anziehenden und abstoßenden Kräften angesehen (vgl. **Tab. 2-1**). Während die Erstgenannten einen Antrieb zur Assemblierung liefern, widersetzen sich die Letzteren diesem Vorgang. Bei organisch-chemischen Molekülen führen die Hydrophobizität und die elektrostatische Abstoßung nach einiger Zeit zu einem Kompromiss, in dem auch Lösemitteleffekte in der Gesamtbetrachtung berücksichtigt werden müssen. Eine Neuverknüpfung der kovalenten, chemischen Bindungen findet bei der Selbstorganisation von Molekülen nicht statt.

Tab. 2-1 An der Selbstassemblierung beteiligten Kräfte im Gleichgewicht.<sup>[87]</sup>

Anziehende Kräfte	Abstoßende Kräfte
Hydrophobizität	Hydratisierung
Van-der-Waals	Elektrochemische Doppelschicht
$\pi$ - $\pi$ -Stapelung	Elektrostatische Wechselwirkung
Wasserstoffbrückenbindung	Sterische Wechselwirkung
Solvation (lösemittelbedingt <i>pro</i> )	Solvation (lösemittelbedingt <i>kontra</i> )
Verdrängung ("Depletion")	
Verbrückung ("Bridging")	
Koordinative Bindung	

In biologischen Systemen, zu denen Peptide, Proteine, Lipide oder Zellmembranen zählen, sind vor allem die Wasserstoffbrückenbindung, die koordinative Bindung sowie die sterische Wechselwirkung diejenigen Kräfte, die eine zielgerichtete Ausbildung von Sekundärstrukturen fördern. Beim Erreichen der kritischen Konzentration in Lösung setzt die Aggregation der Makrobausteine ein und resultiert im Prozess der Selbstassemblierung. Wenn zielgerichtete Wechselwirkungen fehlen, findet die Selbstassemblierung unkontrolliert statt (vgl. Abb. 2-14). Die entstandenen Aggregate unterliegen keiner hierarchischen Ordnung. Mizellen, Kolloide und knäuelartige Strukturen sind oft das Resultat solcher Prozesse.

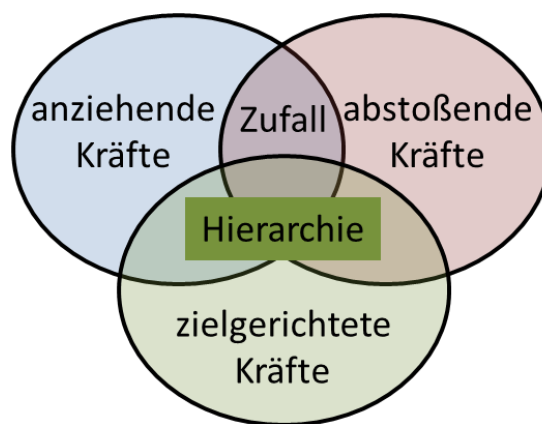
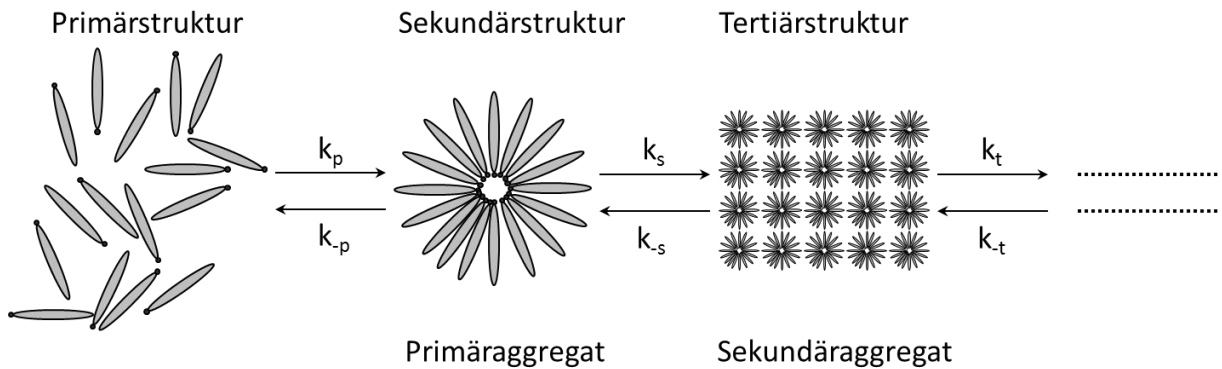


Abb. 2-14 Einfluss der Kräfte auf die resultierende, selbstassemblierte Überstruktur.

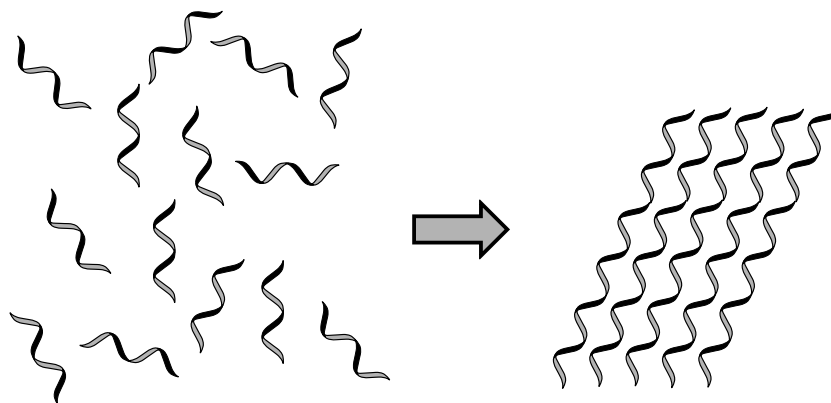
In vielen Fällen erfolgt die Selbstassemblierung über mehrere Schritte und stoppt nicht nach dem ersten Anordnen der Makromoleküle, da die zuvor erwähnten zwischenmolekularen Kräfte weiterhin wirken. So können Aggregate aus der Anfangsphase des Selbstorganisationsprozesses sich wiederum zu Strukturen höherer Ordnung zusammenlagern. CLINT ET AL.<sup>[88]</sup> zeigen zum Beispiel in ihrer Arbeit, dass Tenside als primäre Baueinheiten ab einer kritischen Konzentration erst einzelne Mizellen formen, die sich bei weiterhin günstigen Bedingungen als sekundäre Elemente zu Mesophasen zusammenlagern (vgl. Abb. 2-15). Diese Tatsache lässt sich für die Entwicklung lyotroper, flüssigkristalliner Medien ausnutzen. Im Hinblick

darauf, dass in dieser Arbeit die makroskopischen, selbstorganisierenden Baueinheiten mit dem Ziel gestaltet werden, orientierende, lyotrope Flüssigkristalle bilden zu können, sind helikale oder  $\beta$ -faltblattstrukturbildende Elemente vorteilhaft, weil sie den stäbchenförmigen Mesogenen ähneln.



**Abb. 2-15** Allgemeines Schema für Selbstassemblierung inklusive Aggregaten höherer Ordnung.

Der Nachteil von LLC-Phasen, dass oftmals eine hohe kritische Konzentration der Mesogene benötigt wird, um eine flüssigkristalline Phase auszubilden, kann bedingt überwunden werden, wenn Bausteine verwendet werden, die zur Assoziation in Lösung neigen. MARX konnte zum Beispiel zeigen, dass hochmolekulare Homopolypeptide mit einem höheren Aspektverhältnis in geringerer kritischer Konzentration eingesetzt werden können, um auswertbare NMR-Spektren zu erhalten.<sup>[18]</sup>



**Abb. 2-16** Idealierte Selbstassemblierung von helikalen Mesogenen in Lösung zu einer LLC-Phase.

Zunächst soll jedoch auf die unterschiedlichen Klassen an Polymeren eingegangen werden, die zur Selbstassemblierung neigen.

## 2.6. Foldamere

1998 bezeichnete S. H. GELLMAN in einem Review<sup>[89]</sup> synthetische Polymere, die eine spezifische kompakte Konformation einnehmen, als Foldamere und schaffte damit eine erste Definition dieses Begriffs. In der Literatur sind zahlreiche Beispiele von künstlichen, selbstassemblierenden Makromolekülen bekannt, die mithilfe ihrer Überstruktur in Lösung biologische Funktionen von natürlichen Peptiden oder Proteinen imitieren. Sie erfüllen dieselben Anforderungen wie ihre Vorbilder, nämlich:

- 1.) hierarchische Organisation (Primär-, Sekundär-, Tertiärstruktur) in Lösung
- 2.) Heterogenität in der Sequenz
- 3.) Kooperativität bei der Selbstorganisation

Die wichtigsten Vertreter der Foldamere<sup>[89]</sup> sind Oligoharnstoffe<sup>[90, 91]</sup>, Azapeptide<sup>[92, 93]</sup>, Oligohydrazide<sup>[94, 95]</sup>, Peptoid<sup>[96-99]</sup>,  $\beta$ -,  $\gamma$ -<sup>[24, 100, 101]</sup> sowie  $\delta$ -Peptide<sup>[102-105]</sup>. Darüber hinaus gibt es Mischklassen wie etwa  $\alpha/\beta$ -<sup>[106, 107]</sup> und  $\beta/\gamma$ -Peptide<sup>[108]</sup>, die sich aus den entsprechenden Bausteinen zusammensetzen (vgl. Abb. 2-17). Alle diese Verbindungen besitzen aufgrund von Amidbindungen eine rigide Hauptkette, während die mögliche Seitenkettenfunktionalisierung die dirigierenden Kräfte unterstützt, um sehr stabile, helikale Strukturen in Lösung ausbilden zu können.

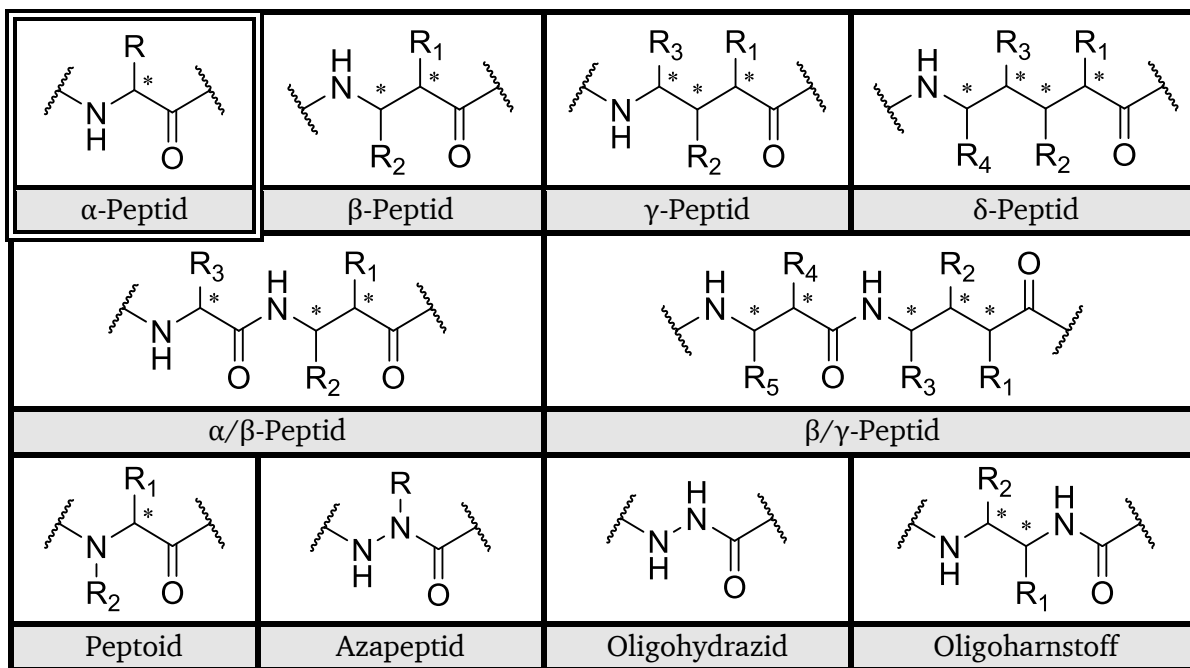


Abb. 2-17 Beispiele einiger Foldamere im Vergleich zum  $\alpha$ -Peptid; [\*] markiert stereogene Zentren.

$\beta$ -Peptide sind einfach gestaltete Foldamere, deren starkes Bestreben zur Selbstassemblierung die Ausbildung von lyotropen, flüssigkristallinen Phasen vermuten lässt. Erste Indikationen dazu liefern zahlreiche Veröffentlichungen von SEEBACH und GELLMAN.<sup>[10, 109]</sup> Die strukturelle Ähnlichkeit zu  $\alpha$ -Peptiden legt nahe, dass die Synthesetechniken der Peptidchemie auf die Herstellung dieser künstlichen Oligomere übertragen werden können.

## 2.7. $\beta$ -Peptide

Als  $\beta$ -Peptide werden Oligomere bezeichnet, die aus den entsprechenden  $\beta$ -Aminosäuren aufgebaut sind. Sie besitzen definierte Strukturelemente, die später einen Einfluss auf die resultierende Sekundärstruktur in Lösung haben. Aliphatische Reste bewirken zum Beispiel eine Zunahme der Hydrophobizität, polare Seitengruppen dagegen beeinflussen die Hydratation sowie die elektrostatischen Kräfte. Aromatische Funktionen im Molekül erlauben, dass die  $\pi$ - $\pi$ -Stapelung die Selbstorganisation intra- wie auch intermolekular vorantreibt. Eine definierte Konfiguration der stereogenen Zentren am Peptidrückgrat und ebenso eine Einschränkung der Konformation durch zyklische Reste beeinflussen die Helizität der solvatisierten Peptide.<sup>[110-112]</sup>

### 2.7.1. Sekundärstruktur von $\beta$ -Peptiden

Bei der Beschreibung der Sekundärstruktur von  $\beta$ -Peptiden bietet es sich an, neben den einflussnehmenden Kräften auch geometrische Größen zu betrachten. Diederwinkel sind in dieser Hinsicht ein äußerst nützlicher Parameter, um den konformationellen Zustand eines Peptidrückgrats wiederzugeben. Ausgehend von PAULING und COREYS Beobachtungen<sup>[113]</sup>, dass die Amidbindung zu 40 Prozent Doppelbindungscharakter hat und daher in guter Näherung als planar angesehen werden kann, werden den übrigen drehbaren Komponenten eines Peptidrückgrats Torsionswinkel zugewiesen, die relativ zueinander nur bestimmte Werte annehmen können. BANERJEE ET AL. erweitern diese etablierte Beschreibung um weitere Winkel für jede zusätzliche Methyleneneinheit (vgl. Abb. 2-18).<sup>[114, 115]</sup>

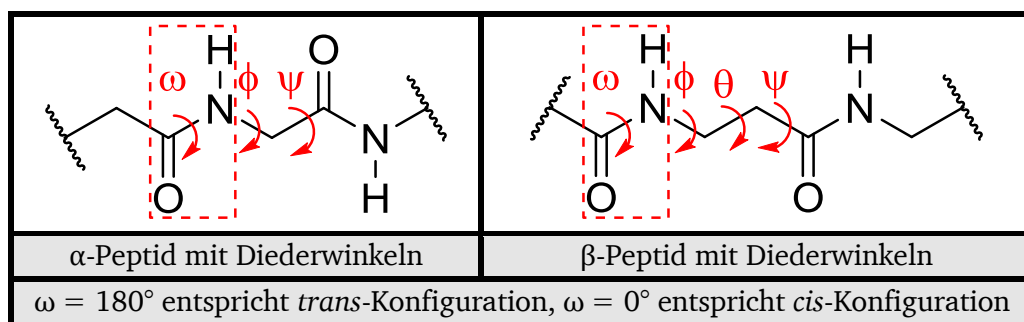
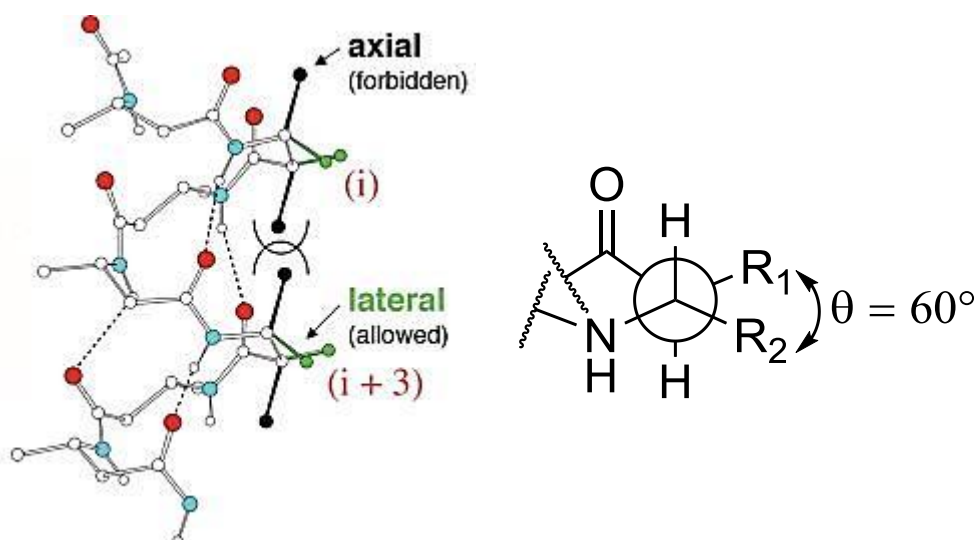


Abb. 2-18 Definition Diederwinkel in Peptiden.

Obwohl die Struktur des  $\beta$ -Peptidrückgrats mit einem weiteren zusätzlichen Diederwinkel eine Erhöhung der konformationellen Flexibilität vermuten lässt, die gleichzeitig in einer für die Selbstassemblierung ungünstigen Zunahme der Entropie resultiert<sup>[116-118]</sup>, wurde in der Praxis eher das Gegenteil beobachtet.<sup>[10, 11, 24]</sup> Im Vergleich zu  $\alpha$ -Peptiden bilden die  $\beta$ -Derivate nämlich schon bei wesentlich kürzeren Kettenlängen stabile Sekundärstrukturen aus. MD-Simulationen aus der Arbeitsgruppe von VAN GUNSTEREN zeigen, dass der Einfluss von Seitenkettensubstituenten nicht gänzlich zur Erklärung dieses Phänomens ausreicht. Wechselwirkungen mit dem umgebenden Lösemittel sowie der Substitutionsgrad der  $\beta$ -Aminosäuren spielen eine viel größere Rolle.<sup>[119-122]</sup>

Die Ergebnisse der Berechnungen decken sich mit den vorhergehenden Beobachtungen von SEEBACH ET AL.,<sup>[123, 124]</sup> dass Helices aus  $\beta^2$ -Aminosäuren in Lösung weniger stabil sind als solche, die aus  $\beta^3$ -substituierten Aminosäuren bestehen. Es hat sich gezeigt, dass Substituenten einzelner  $\beta$ -Aminosäure-Bausteine, die eine axiale Position relativ zur Helixachse einnehmen, aufgrund sterischer Wechselwirkungen mit dem  $\beta$ -Peptid-Rückgrat die helikale Konformation der Sekundärstruktur stören. Der Winkel  $\theta$  kann nicht beliebige Werte annehmen, sondern beträgt bis auf wenige Ausnahmen entweder  $\pm 60^\circ$  oder  $180^\circ$  und schränkt somit die Anzahl an möglichen Konformeren stark ein (vgl. Abb. 2-19).<sup>[112]</sup> Alle genannten Effekte wirken der Konformationsentropie entgegen und erlauben eine zielgerichtete Gestaltung von Sekundärstrukturen: Helix, Strang, Schleife oder Faltblatt.



**Abb. 2-19** Einfluss der Substituenten auf die Ausbildung einer  $\beta$ -Peptid-Helix; idealisierte (*M*)- $3_{14}$ -Helix (links); Abbildung entnommen aus<sup>[125]</sup>; Newman-Projektion entlang der  $C_\beta$ - $C_\alpha$ -Bindung der  $\beta$ -Aminosäure-Bausteine (rechts).

### 2.7.2. Helix eines $\beta$ -Peptids

Für  $\beta$ -Peptide sind bisher fünf verschiedene Helixarten beobachtet worden. Sie werden jeweils durch die Anzahl der beteiligten Atome eines mit Wasserstoffbrücken stabilisierten Ringes innerhalb der Struktur definiert. Zusätzlich kann die Anzahl der Aminosäuren pro Windung sowie ihre Händigkeit angegeben werden. Eine (*M*)- $3_{14}$ -Helix enthält folglich pro linkshändige Wendung drei  $\beta$ -Aminosäuren und der jeweilige, mittels Wasserstoffbrückenbindung verbrückte Ring besteht aus 14 Atomen. Der Deskriptor (*P*) hingegen beschreibt eine rechtshändige Helizität. Beide Orientierungen können bei  $\beta$ -Peptiden über die Konfiguration des stereogenen Zentrums im Rückgrat kontrolliert werden.

## 14-Helix

Die 14-Helix ist eine der am häufigsten vorkommenden und daher auch am besten untersuchten, helikalen Sekundärstrukturen für  $\beta$ -Peptide.<sup>[10, 11, 24, 109, 123, 126-133]</sup> Sie besteht aus 14-atomigen Ringen, die mittels Wasserstoffbrückenbindungen zwischen einem Amid-Proton N-H (i) und einem Carbonyl-Sauerstoff zwei Aminosäuren später (i+2) stabilisiert sind (vgl. Abb. 2-20). Sehr häufig gibt es Abweichungen von dieser idealisierten Form mit drei Aminosäuren pro Wendung, zum Beispiel wenn die Substituenten mehrerer Triaden sich aus sterischen Gründen nicht direkt übereinander lagern können, sodass vielmehr eine 3.2-Helix entsteht.<sup>[124]</sup>  $\beta^{2,3}$ -substituierte Aminosäuren mit der *trans*-Konfiguration der beiden stereogenen Zentren begünstigen die 14-Helix, was auf die synklinale Stellung der Reste entlang der C $_{\beta}$ -C $_{\alpha}$ -Bindung zurückzuführen ist.<sup>[130, 134]</sup> Die carbozyklische  $\beta$ -Aminosäure *trans*-ACHC und ähnliche Derivate verriegeln sogar den Diederwinkel  $\theta$  zu 60°, was weiter zur Stabilität auch sehr kurzer Peptide beiträgt.<sup>[109, 126, 127, 130, 135, 136]</sup>

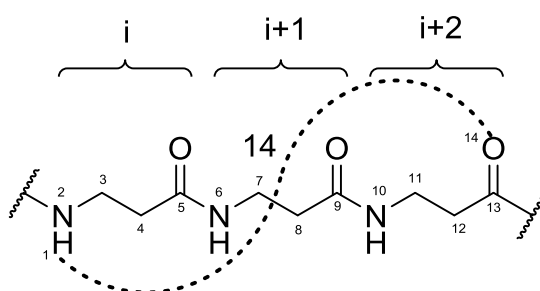


Abb. 2-20 Wasserstoffbrückenbindung in einer 14-Helix.

## 12/10-Helix

$\beta$ -Peptide, die abwechselnd aus  $\beta^3$ - und  $\beta^2$ -Aminosäuren aufgebaut sind, bilden eine 2.7<sub>12,10</sub>-Helix aus. Sie besteht aus alternierenden 12- beziehungsweise 10-atomigen mit Wasserstoff-Brücken stabilisierten Ringen. Das zweiteilige Segment der Sekundärstruktur, das keine Seitenketten in der Nachbarschaft zum Carbonyl-Kohlenstoff der Amidbindung trägt, gehört dabei zum 12-Ring, das substituierte dagegen zum 10-Ring (vgl. Abb. 2-21). Die Anordnung der Substituenten entlang der C $_{\beta}$ -C $_{\alpha}$ -Bindung der Bausteine ist wie bei der 14-Helix synklinale.<sup>[124, 134, 137-139]</sup>

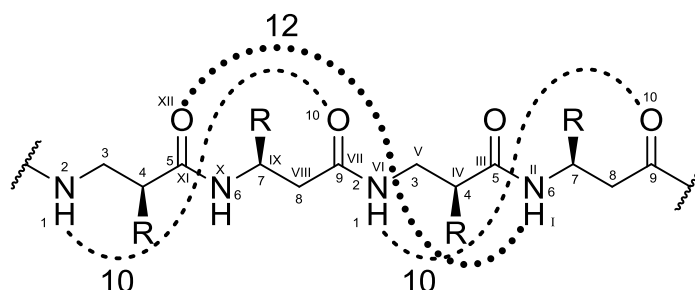


Abb. 2-21 Wasserstoffbrückenbindung in einer 12/10-Helix.

## 12-Helix

Unnatürliche zyklische *trans*- $\beta^{2,3}$ -Aminosäuren, die einen fünfgliedrigen Ring wie beispielsweise einen Cyclopentan- oder Pyrrolidinrest enthalten, fixieren den Diederwinkel  $\theta$  entlang der  $C_\beta$ - $C_\alpha$ -Bindungsachse in Peptiden zu  $85^\circ$ , was die synklinale Stellung der Substituenten unmöglich macht. Dies resultiert in einer  $2_612$ -Helix (vgl. Abb. 2-22).<sup>[140-147]</sup>

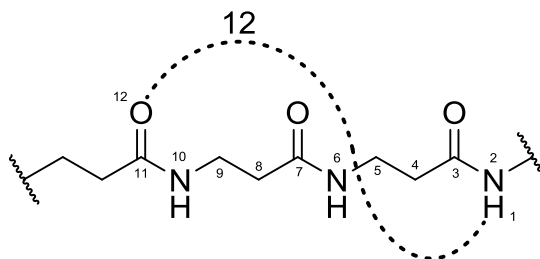


Abb. 2-22 Wasserstoffbrückenbindung in einer 12-Helix; Substituenten sind der Übersicht wegen nicht dargestellt.

## 10-Helix

Noch seltener als die zuvor erwähnten Sekundärstrukturen ist die reine 10-Helix. Sie wurde bisher bei einem Tetramer von *trans*-2-Aminocyclohexan-1-carbonsäure in Lösung<sup>[148]</sup> sowie bei einem Peptid bestehend aus *cis*-3-Aminooxetan-2-carbonsäure beobachtet (vgl. Abb. 2-23).<sup>[149]</sup>

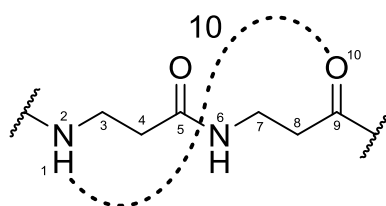


Abb. 2-23 Wasserstoffbrückenbindung in einer 10-Helix; Substituenten sind der Übersicht wegen nicht dargestellt.

## 8-Helix

Die 8-Helix kann für Peptide aus ungewöhnlichen  $\beta$ -Aminosäuren beobachtet werden. In Lösung wurde von GADEMANN ET AL. für ein auf Valin-, Alanin- oder Leucin-Basis  $\beta^3$ -substituiertes Oligomer von (2*R*,3*S*)-2-Hydroxy-3-aminocarbonsäure eine  $2_8$ -Helix festgestellt (vgl. Abb. 2-24).<sup>[150]</sup> Peptide aus 3-Aza- $\beta^2$ -<sup>[151, 152]</sup> sowie 3-Oxa- $\beta^2$ -Aminosäuren<sup>[153, 154]</sup> bilden ebenfalls eine 8-Helix aus.

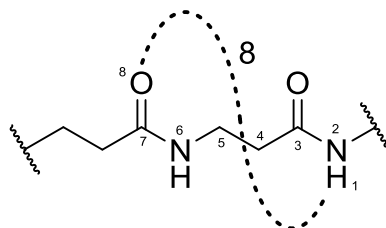


Abb. 2-24 Wasserstoffbrückenbindung in einer 8-Helix; Substituenten sind der Übersicht wegen nicht dargestellt.



Die für diese Arbeit synthetisierten  $\beta$ -Peptide basieren auf den Strukturen aus den Veröffentlichungen von GELLMAN und SEEBACH, sodass eine 14-Helix als Sekundärstruktur angenommen werden kann.<sup>[11, 24, 126, 127, 136, 147, 155, 156]</sup>

### 2.7.3. Andere Sekundärstrukturen eines $\beta$ -Peptids

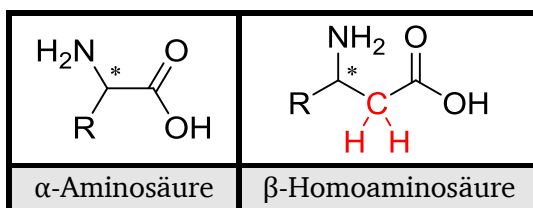
Ein  $\beta$ -Peptid aus  $\beta^{2,3}$ -Aminosäuren, deren Substituenten relativ zum Rückgrat axiale Positionen besetzen, kann in Lösung keine Helix ausbilden und das Oligomer liegt in gestreckter Form vor. Die Seitenketten entlang der  $C_{\beta}$ - $C_{\alpha}$ -Bindungsachse nehmen mit einem Diederwinkel  $\theta$  von  $150^\circ$  bis  $180^\circ$  eine antiperiplanare Position ein, sodass alle Carbonyl-Kohlenstoffe in eine Richtung und die Amid-Protonen in die entgegengesetzte weisen. Da die Richtung der Wechselwirkungen intermolekulare Assemblierung in der Ebene fördert, eignen sich solche Strukturen ideal dazu, Faltblätter auszubilden. Allerdings sind derartige Verbindungen oft sehr unlöslich.<sup>[10, 133, 157-163]</sup>

Erfahrungen mit  $\alpha$ -Peptiden haben gezeigt, dass mit Wasserstoffbrückenbindungen stabilisierte Ringstrukturen in Faltblättern nur Wasserstoffatome als Substituenten zulassen, die nach innen gerichtet sind. Folglich verhindern beispielsweise Methylgruppen oder längere Alkylreste an den entsprechenden Positionen im Peptid eine intermolekulare Aggregation. Versuche mit  $\beta$ -Peptiden aus 3-Amino-2,2-dimethylpropansäure ( $\beta^{2,2}$ -hAib) bestätigen diese Regel.<sup>[161, 162]</sup>

Unter Beachtung aller zuvor erwähnten Designprinzipien und zugehöriger erhaltener Resultate für  $\beta$ -Peptide lassen sich mit entsprechenden Bausteinen auch Schleifen konstruieren. Dazu muss ein Teil des gewünschten Oligomers ein Motiv enthalten, das eine Drehung oder einen Knick induziert. Der Rest des Peptids soll dagegen die Ausbildung einer Faltblattstruktur fördern. Zyklische  $\beta$ -Peptide oder  $\beta$ -Aminosäuren folgen inhärent diesen geforderten Aufbaurichtlinien, wobei auch hier Löslichkeitsprobleme auftreten können, die mit der Selbstassemblierung einhergehen.<sup>[133, 157-160, 164-171]</sup>

#### 2.7.4. $\beta$ -Aminosäuren

$\beta$ -Peptide werden sequenziell über die Reaktion der Carboxylfunktion einer  $\beta$ -Aminosäure mit der Aminogruppe einer anderen aufgebaut. Die einzelnen Bausteine unterscheiden sich dabei von den  $\alpha$ -Aminosäuren im einfachsten Fall durch eine zusätzliche Methyleinheit zwischen dem *N*- und *C*-Terminus. Dabei handelt es sich folgerichtig um Homologa der proteinogenen Aminosäuren, die mit dem Präfix "H" oder "Homo-" eindeutig identifiziert werden können.<sup>[172]</sup>



**Abb. 2-25** Vergleich zwischen  $\alpha$ -Aminosäure (links) und  $\beta$ -Homoaminosäure (rechts).

Wenn die Kohlenstoffatome einer  $\beta$ -Aminosäure ausgehend von der Carboxyl-Gruppe bis zur Aminofunktion durchnummeriert werden, kann die Stelle der Funktionalisierung der Aminosäure mit Substituenten definiert werden. Bei der von SEEBACH ET AL.<sup>[24]</sup> häufig verwendeten Klassifizierung der Derivate wird an den griechischen Buchstaben " $\beta$ " eine hochgestellte Zahl angehängt, die auf den Substitutionsort hinweist (vgl. Abb. 2-26).

$\beta^2$ -Aminosäure	$\beta^{2,2}$ -Aminosäure	$\beta^{2,3}$ -Aminosäure	$\beta^{2,2,3}$ -Aminosäure
$\beta^3$ -Aminosäure	$\beta^{3,3}$ -Aminosäure	$\beta^{2,3,3}$ -Aminosäure	$\beta^{2,2,3,3}$ -Aminosäure

Abb. 2-26 Nomenklatur der  $\beta$ -Aminosäure-Derivate nach SEEBACH ET AL.<sup>[24]</sup>

Darüber hinaus gibt es eine weitere Unterscheidung der zyklischen  $\beta$ -Aminosäure-Derivate bezogen auf die Art der Zyklisierung: Carbozyklus oder Heteroatomzyklus (vgl. Abb. 2-27).

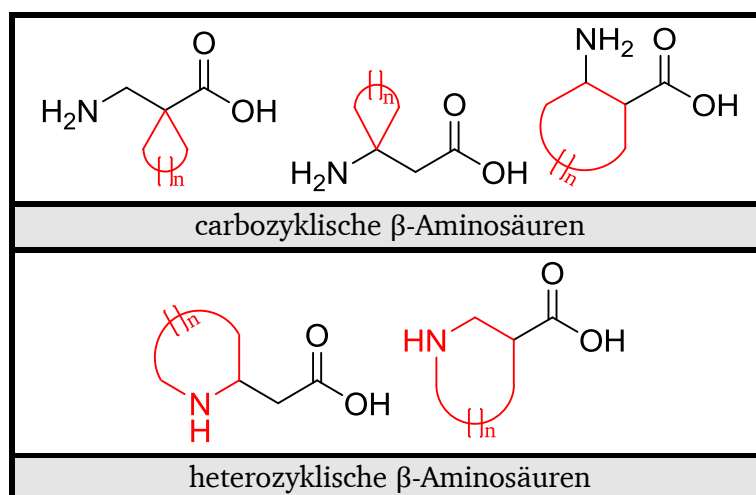


Abb. 2-27 Allgemeine Darstellung zyklischer  $\beta$ -Aminosäuren.

Obwohl  $\beta$ -Aminosäuren eine ungewöhnliche Struktur aufweisen, haben sie einen natürlichen Ursprung. Bereits 1955 konnte S. L. MILLER in einem Laborexperiment zeigen, dass unter chemischen wie auch physikalischen Bedingungen der Urerde gegen Ende des Hadaikums, der frühen Entstehungsphase der Erde, aus einfachen Molekülen wie Methan ( $\text{CH}_4$ ), Ammoniak ( $\text{NH}_3$ ), Wasserstoff ( $\text{H}_2$ ) und Wasser ( $\text{H}_2\text{O}$ ) komplexe organische Moleküle entstehen.  $\beta$ -Alanin **1** ist eines der damals isolierten Produkte, das sich ebenso anteilig in sogenannten kohligen Chondriten – Gesteinsmeteoriten mit hohem Kohlenstoffanteil – nachweisen lässt.<sup>[173]</sup> In der Natur ist diese  $\beta$ -Aminosäure als Baustein der Dipeptide Anserin **2**, Carnosin **3** sowie der Pantothersäure **4**, die besser unter dem Trivialnamen Vitamin B<sub>5</sub> bekannt ist, zu finden (vgl. Abb. 2-28).

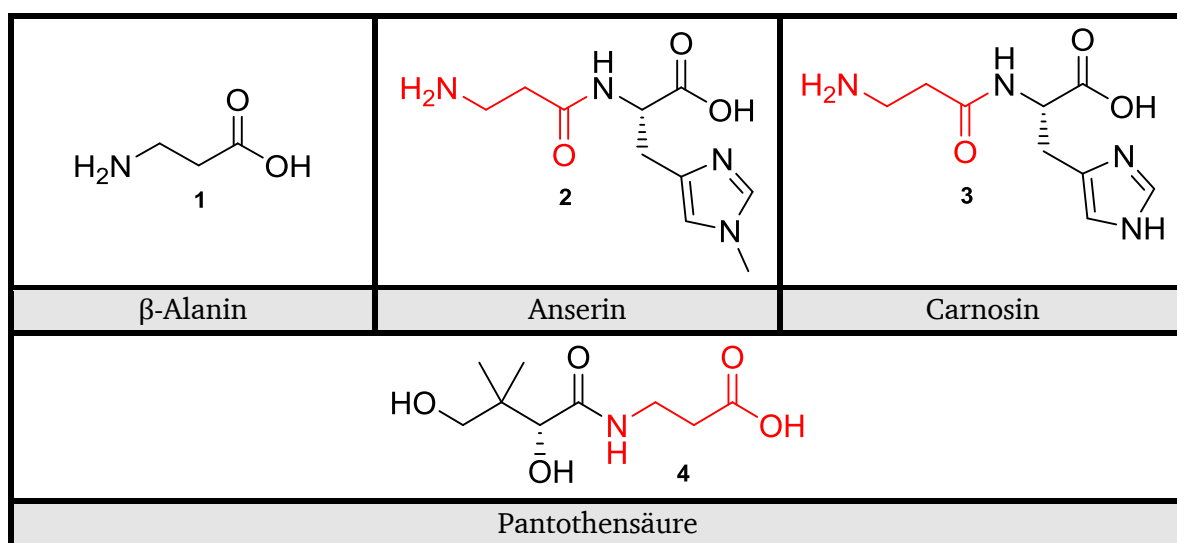


Abb. 2-28  $\beta$ -Alanin und Beispiele in denen diese  $\beta$ -Aminosäure enthalten ist.

### 2.7.5. Synthese von $\beta$ -Aminosäuren

Seit die  $\beta$ -Peptide verstärkt in den Fokus der Forschung stehen, steigt die Nachfrage nach ihren Grundbausteinen, den  $\beta$ -Aminosäuren, die hauptsächlich über chemische Synthese zugänglich sind. Die große Herausforderung bei der Herstellung besteht allerdings nicht nur in der Funktionalisierung der Substituenten sondern auch in der enantiomerenreinen Synthese dieser Moleküle. Einige stereoselektive Synthesewege werden im Folgenden kurz tabellarisch zusammengefasst (vgl. Tab. 2-2).<sup>[174, 175]</sup>

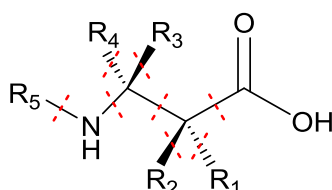


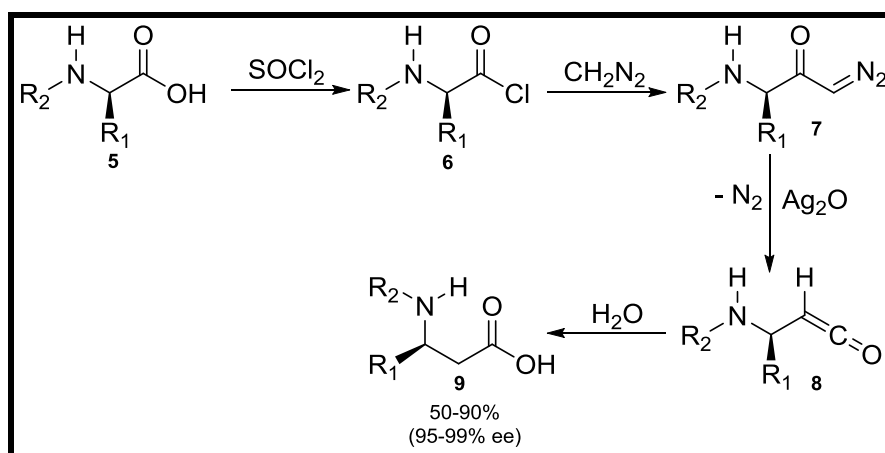
Abb. 2-29 Retrosynthetische Schnitte der  $\beta$ -Aminosäure-Synthese.

**Tab. 2-2** Beispiele stereoselektiver Synthesen von  $\beta$ -Aminosäuren.

Reaktion	Edukt	AA	Reagenz	Ausbeute	Literatur
Arndt-Eistert-Homologisierung	$\alpha$ -Aminosäure	$\beta^3$	Diazomethan	50-90% (95-99% ee)	ARNDT <sup>[176, 177]</sup> EISTERT <sup>[178-180]</sup> WOLFF <sup>[181, 182]</sup> (vgl. <b>Sch. 2-1</b> )
Homologisierung über Cyanhydrine	$\alpha$ -Aminosäure	$\beta^3$	TEMPO, HCN	30-80%	JURCZAK <sup>[183]</sup> STEURER <sup>[184]</sup> TASIC <sup>[185]</sup> (vgl. <b>Sch. 2-2</b> )
Enolat-Addition an Sulfinimine	Sulfinimin	$\beta^3$	Enolat	50-90% (95-99% ee)	DAVIS <sup>[186]</sup> MORTON <sup>[187]</sup> (vgl. <b>Sch. 2-3</b> )
Asymmetrisch katalysierte Konjugat- Addition	Imid	$\beta^2$	HN <sub>3</sub> , JACOBSEN- Katalysator	60-99% (58-98% ee)	SIBI <sup>[188]</sup> MYERS <sup>[189]</sup> GUERIN <sup>[190-192]</sup> LIU <sup>[193]</sup> (vgl. <b>Sch. 2-4</b> )
Asymmetrisch katalysierte Mannich- Reaktion	Aldehyd	$\beta^2$	tertiäres Amin, Prolin als Katalysator	40-50% (<98% ee)	CORDOVA <sup>[194]</sup> CHI <sup>[195, 196]</sup> (vgl. <b>Sch. 2-5</b> )
Stereoselektive Hydrierung	Enamin	$\beta^3$	H <sub>2</sub> , [Rh(cod)Cl] <sub>2</sub> , JosiPhos SL-J011-2	74-98% (82-97% ee)	HSIAO <sup>[197]</sup> (vgl. <b>Sch. 2-6</b> )
Zykloaddition, Diels-Alder- Reaktion	1,3-Dien	$\beta^{2,3}$	Dienophil	15-99% (<99% ee)	CALMES <sup>[198, 199]</sup> (vgl. <b>Sch. 2-7</b> )
Biokatalytische Racematspaltung	N-Acetyl- $\beta$ -Aminosäure	$\beta^3$	Enzym (Acylase I)	33-50% (95-98% ee)	LILJEBLAD <sup>[200]</sup> GROGER <sup>[201]</sup> (vgl. <b>Sch. 2-8</b> )

## Arndt-Eistert-Homologisierung von $\alpha$ -Aminosäuren

Bereits im Jahre 1935 stellten ARNDT und EISTERT eine Methode vor, Carbonsäuren in ihre höheren Homologa oder andere Derivate zu überführen (vgl. **Sch. 2-1**).<sup>[177]</sup> Das Verfahren basiert auf vorhergehenden Arbeiten mit Diazomethan<sup>[176]</sup> und nutzt Carbonsäurechloride **6** als Vorläufer, die zu Diazoketonen **7** umgesetzt werden. Unter Silberkatalyse oder Lichteinwirkung erfolgte eine Abspaltung des Stickstoffs und die daraufhin einsetzende Wolff-Umlagerung<sup>[181, 182]</sup> führte zu einem Keten **8** des Moleküls, das aufgrund seiner Instabilität *in situ* mit einem Nukleophil umgesetzt wurde. Geht man von einer  $\alpha$ -Aminosäure **5** als Ausgangsverbindung aus, so führt die finale Reaktion mit Wasser zu einer Verlängerung der Kohlenstoffkette um eine Methyleinheit, während das stereogene Zentrum am ehemaligen  $\alpha$ -Kohlenstoffatom seine Konfiguration beibehält.<sup>[178-180]</sup>

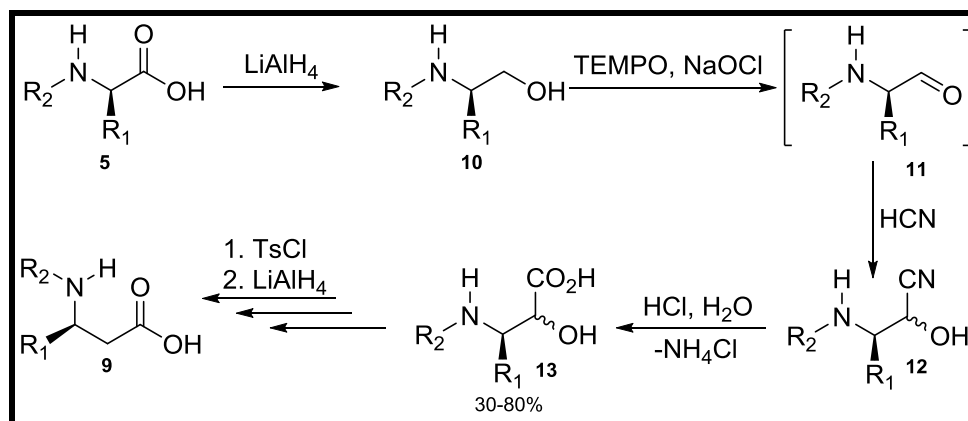


**Sch. 2-1** Synthese einer  $\beta$ -Aminosäure mittels Arndt-Eistert-Homologisierung.

## Homologisierung von $\alpha$ -Aminosäuren über Cyanhydrine

Ein alternativer Syntheseweg (vgl. **Sch. 2-2**) führt über funktionalisierte Cyanhydrine zu  $\alpha$ -Hydroxy- $\beta$ -Aminosäuren, wobei durch die weitere Umsetzung der entstandenen Hydroxygruppe andere Alkyl-Derivate zugänglich sind.<sup>[202]</sup>

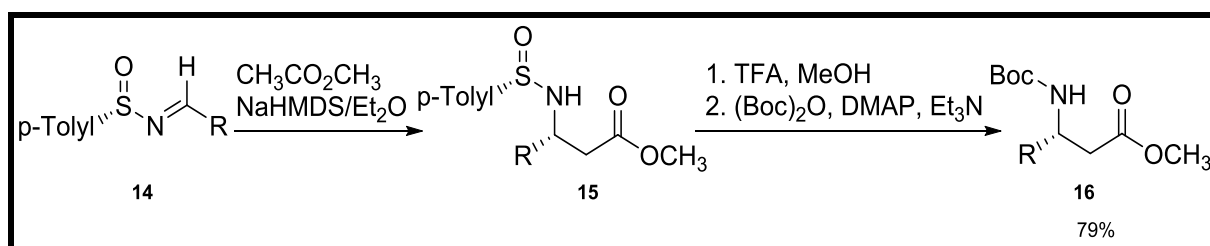
Zuerst wurde eine  $\alpha$ -Aminosäure **5** am N-Terminus geschützt und die Carboxyl-Gruppe zu einem Alkohol **10** reduziert, um anschließend einen Aminoaldehyd **11** aufzubauen.<sup>[183, 184]</sup> Dieses Molekül wurde dann mit *in situ* generiertem Cyanwasserstoff in ein Cyanhydrin **12** umgewandelt, wobei die Reaktion nicht stereospezifisch ablief. Die saure Hydrolyse der Nitril-Gruppe führte schließlich zu einer  $\alpha$ -Hydroxy- $\beta$ -Aminosäure **13**. TASIC ET AL. zeigten, dass es möglich ist, die Hydroxygruppe mittels einer Zyklisierung des Produkts zu einem Oxazol und nachfolgender Ringöffnung in eine bevorzugte Konfiguration zu überführen.<sup>[185]</sup> Andernfalls muss die Hydroxygruppe zum Beispiel mithilfe von Tosylchlorid zu einer guten Abgangsgruppe umgesetzt werden, sodass sie anschließend leicht hydriert werden kann.



Sch. 2-2 Synthese einer  $\beta$ -Aminosäure über Cyanhydrine.

### Enolat-Addition an ein chirales Sulfinimin

DAVIS und SZEWCZYK brachten chirale Sulfinimine **14** mit Enolaten zur Reaktion, um das entsprechende Sulfinamid **15** in hoher Diastereoselektivität (>96% de) zu erhalten. Weitere Aufarbeitung dieses Zwischenprodukts führte schließlich zu einem Boc-geschützten  $\beta$ -Homoaminosäuremylester **16** der leicht in die entsprechende freie Aminosäure umgewandelt werden kann (vgl. Sch. 2-3).<sup>[186]</sup> MORTON ET AL. haben in einem ausführlichen Review die weitere Entwicklung dieser vielseitigen Synthese verfolgt.<sup>[187]</sup>



Sch. 2-3 Synthese einer  $\beta$ -Aminosäure über chirale Sulfinimine.

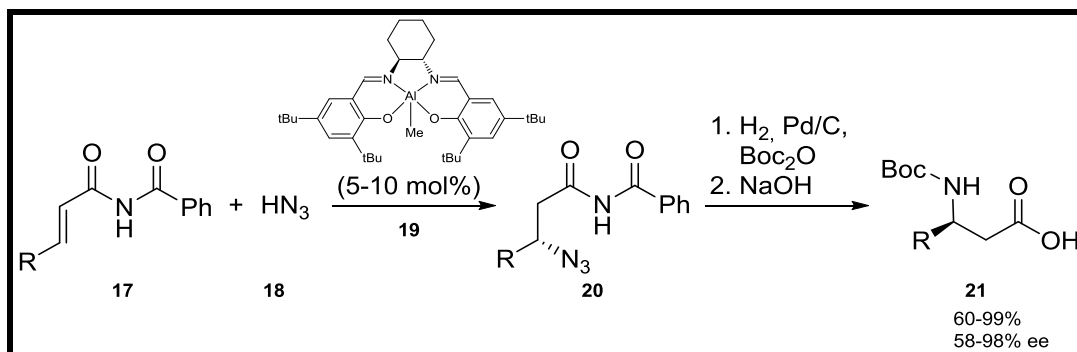
### Asymmetrisch katalysierte Konjugat-Addition eines Nukleophils

Die asymmetrische Katalyse bietet einen guten Zugang zu enantiomerenreinen  $\beta$ -Aminosäuren.<sup>[188-193]</sup> Sie erfordert jedoch meistens den Einsatz von 5 bis 10 Molprozent eines chiralen Organometallkatalysators, damit das gewünschte Nukleophil stereoselektiv an eine  $\alpha,\beta$ -ungesättigte Verbindung anknüpft.

MYERS ET AL. aus der Arbeitsgruppe von E. N. JACOBSEN publizierten zum Beispiel eine Methode (vgl. Sch. 2-4), die mithilfe des JACOBSEN-Katalysators Stickstoffwasserstoffsäure **18** selektiv an ein ungesättigtes Imid **17** addierte, um dieses Zwischenprodukt **20** anschließend in einer Eintopfreaktion zu hydrieren sowie gleichzeitig den entstandenen *N*-Terminus der  $\beta^3$ -Aminosäure **21** über  $\text{Boc}_2\text{O}$  mit der Boc-Schutzgruppe zu versehen.<sup>[189]</sup>

Die stereoselektive Addition eines Cyanids unter vergleichbaren Bedingungen wird ebenfalls ausführlich in der Literatur beschrieben.<sup>[203-205]</sup>

Es ist ferner bekannt, dass das Imid **17** als eine Acyloxazolidinon-Variante, das einem Evans-Auxiliar ähnelt, in der Synthese von  $\beta^2$ -Aminosäuren als Ausgangsstoff eingesetzt werden kann, um mit  $\text{TiCl}_4$  als Katalysator optisch sehr reine Produkte zu erhalten.<sup>[138, 206]</sup>



Sch. 2-4 Synthese einer  $\beta$ -Aminosäure über eine asymmetrisch katalysierte Konjugat-Addition.

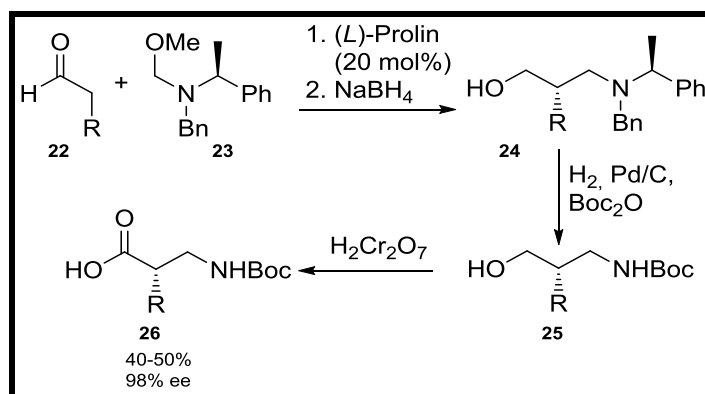
### Asymmetrisch katalysierte Mannich-Reaktion

Die Mannich-Reaktion wird seit ihrer Entdeckung im Jahr 1912 durch C. U. F. MANNICH dazu benutzt, um an CH-aciden Verbindungen Amino-Alkylierungen durchzuführen. Inzwischen gibt es zahlreiche Varianten, die dank organischer Katalyse stereoselektive Produktbildung ermöglichen.

CORDOVA ET AL. nutzten beispielsweise im einfachsten Fall 5 Molprozent (*L*)-Prolin, um funktionalisierte Aldehyde mit Iminen zu substituierten  $\beta^2$ -Aminosäure-Derivaten umzusetzen.<sup>[194]</sup> Diese Synthesestrategie wurde durch CHI ET AL. weiterentwickelt (vgl. Sch. 2-5), sodass bei einer höheren Katalysatormenge von 20 Molprozent enantiomerenreine  $\beta^2$ -Aminosäuren in akzeptabler Ausbeute erhalten werden konnten.<sup>[195, 196]</sup> Dabei wurde ein substituierter Aldehyd **22** mit einem tertiären Amin **23**, das als Ausgangsstoff für das notwendige Iminium-Ion fungierte, umgesetzt und anschließend zu einem Alkohol **24** reduziert. Die folgende Hydrierung und Reaktion mit  $\text{Boc}_2\text{O}$  als Schutzgruppenreagenz realisierte im Aminoalkohol **24** eine Boc-geschützte Aminogruppe **25**.

Im finalen, produktbildenden Schritt wurde die Alkohol-Funktionalität mit einem geeigneten Oxidationsmittel zu einer Carbonsäure umgewandelt, sodass schließlich eine  $\beta^2$ -Aminosäure **26** vorlag.

WENZEL aus der Arbeitsgruppe von E.N. JACOBSEN verwendete statt Aldehyden Silyl-Keten-Acetale, Boc-geschützte Imine sowie einen auf Thioharnstoff basierten Organokatalysator, um  $\beta$ -Aminosäure-Derivate in sehr hoher Ausbeute und optischer Reinheit zu erhalten.<sup>[207]</sup>

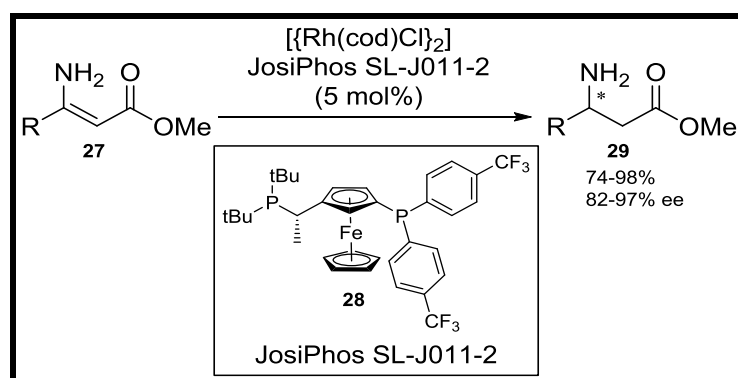


Sch. 2-5 Synthese einer  $\beta$ -Aminosäure über eine asymmetrisch katalysierte Mannich-Reaktion.

## Stereoselektive Hydrierung

Die übergangsmetallkatalysierte Hydrierung von Enaminen sowie Iminen ermöglicht ebenfalls die Synthese von  $\beta$ -Aminosäuren, hat jedoch den Nachteil einer schlechten Selektivität. Erst der Einsatz von chiralen Liganden am Katalysator erlaubt die Herstellung der gewünschten Produkte in einer moderaten Enantiomerenreinheit.<sup>[208-215]</sup>

Während die meisten Verfahren von N-Acyl-geschützten, ungesättigten Verbindungen ausgehen, um bei der stereoselektiven Synthese einen zusätzlichen dirigierenden Effekt des Substrats zu nutzen<sup>[211, 214]</sup>, basieren aktuelle Arbeiten auch auf ungeschützten Verbindungen. HSIAO ET AL. verwendeten zum Beispiel für die asymmetrische Hydrierung eine Katalysatorkombination aus Rhodium und einem sogenannten JosiPhos-Liganden, mit der sie sehr hohe Ausbeuten wie auch einen großen Enantiomerenüberschuss erreichen konnten (vgl. Sch. 2-6).<sup>[197]</sup>



Sch. 2-6 Synthese einer  $\beta$ -Aminosäure über eine asymmetrische Hydrierung eines Enamins.  
(\*) Konfiguration abhängig vom Rest R.

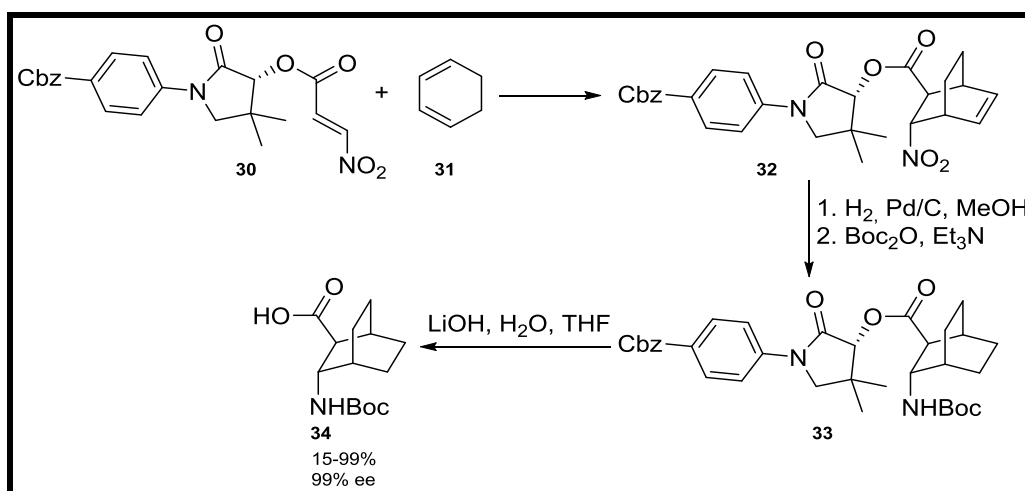


## Zykloaddition

Carbozyklische  $\beta$ -Aminosäure-Derivate sind gut über die Zykloaddition zugänglich. So wird beispielsweise die [4+2]-Zykloaddition, die besser unter dem Namen Diels-Alder-Reaktion bekannt ist, erfolgreich angewendet, um enantiomerenreine Produkte zu erhalten.<sup>[198, 199, 216-221]</sup>

CALMES ET AL. gingen in ihrer Synthese (vgl. **Sch. 2-7**) von einem chiralen  $\beta$ -Nitroacrylat **30**<sup>[198, 199]</sup> aus und setzten dieses mit 1,3-Cyclohexadien **31** um. Im darauf folgenden Schritt wurde das erhaltene Bicyclo[2.2.2]oct-2-en-Derivat **32** hydriert und mit  $\text{Boc}_2\text{O}$  umgesetzt, sodass dann ein entsprechender *N*-Boc- $\beta^{2,3}$ -Carbozykloaminosäureester **33** vorlag. Final wurde die Estergruppe unter basischen Bedingungen hydrolysiert, um schließlich die carbozyklische, *N*-Boc-geschützte  $\beta^{2,3}$ -Aminosäure **34** als enantiomerenreines Erzeugnis zu bekommen.

Neben der [4+2]-Zykloaddition gibt es die eher seltene [2+2]-Variante, die zu  $\beta$ -Lactamen, den zyklischen Vorläufer von  $\beta$ -Aminosäuren, und ähnlichen Verbindungen führt.<sup>[222-225]</sup> Die [3+2]-Zykloaddition findet ebenfalls Anwendung bei der Synthese der gewünschten optisch reinen Produkte.<sup>[226-230]</sup>

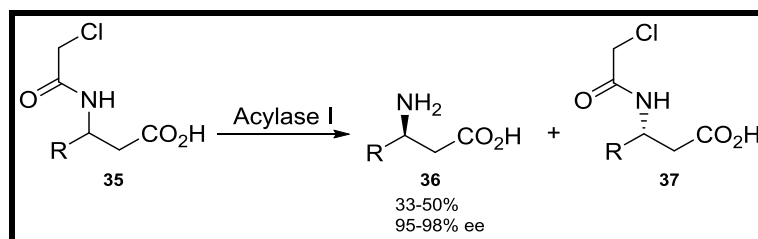


**Sch. 2-7** Synthese einer carbozyklischen  $\beta$ -Aminosäure über eine [4+2]-Zykloaddition.

## Biokatalyse

Im Vergleich zur klassischen, chemischen Synthese von  $\beta$ -Aminosäuren sind nur wenige biokatalytische Methoden überliefert, die direkt zum Produkt führen.<sup>[200]</sup> Vielmehr stützt sich die Biokatalyse hauptsächlich auf die kinetische Racematspaltung als Arbeitsinstrument. So ist zum Beispiel das Enzym Acylase I dazu in der Lage, ein Racemat von *N*-Chloroacetyl-3-aryl- $\beta$ -aminosäuren **35** in gewünschtes, optisch reines Produkt **36** zu überführen, wobei das andere Enantiomer **37** des Edukts unangetastet bleibt (vgl. **Sch. 2-8**).<sup>[201]</sup>

Natürlich bietet die Biokatalyse auch direkten Zugang zu  $\beta$ -Aminosäuren, indem sie etwa Michael-artige Reaktionen unterstützt.<sup>[231-233]</sup> Darüber hinaus gibt es vielversprechende Syntheseansätze, die sogenannte Amino-Transferasen<sup>[234]</sup> sowie Isomerasen<sup>[235]</sup> nutzen.



**Sch. 2-8** Synthese einer  $\beta$ -Aminosäure über eine biokatalytische Racematspaltung mittels Acylase I.

Von allen vorgestellten Synthesewegen für  $\beta$ -Aminosäuren ist die Methode nach ARNDT-EISTERT (vgl. **Sch. 2-1**) am besten geeignet, die Homologa der proteinogenen Aminosäuren herzustellen, die für die Produktion der  $\beta$ -Peptide aus der vorliegenden Arbeit benötigt werden. Es wird jedoch nicht die ursprüngliche Vorschrift von 1935<sup>[177]</sup> angewandt, sondern eine Weiterentwicklung von MÜLLER ET AL.<sup>[236]</sup>, die eine höhere Ausbeute und Enantio-merenreinheit liefert.

Neben  $\beta$ -Peptiden gibt es  $\alpha$ -Peptide, die als Orientierungsmedien für die NMR geeignet sein könnten, weil sie in der Lage sind, LLC-Phasen auszubilden. Die Selbstassemblierung spielt auch hierbei eine grundlegende Rolle.

## 2.8. $\beta$ -Strukturbildner

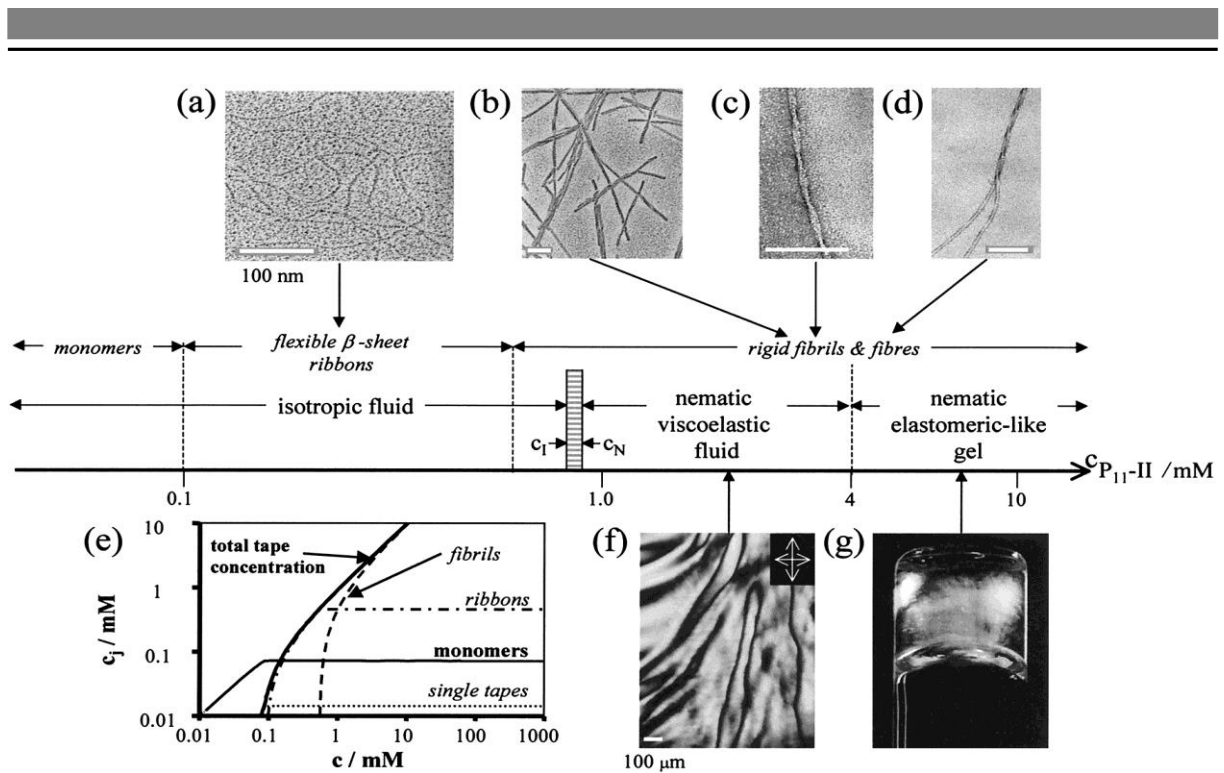
Für die Ausbildung stabiler Überstrukturen in Lösung sind neben Helices auch unterschiedliche Arten von  $\beta$ -Strukturen bekannt, die primär aus  $\beta$ -Faltblatt-Motiven aufgebaut sind. Zahlreiche  $\alpha$ -Peptide assemblieren aufgrund intermolekularer Wasserstoffbrückenbindungen in einer Dimension und wickeln sich aufgrund hydrophober sowie aromatischen Wechselwirkungen umeinander, sodass helikale Nano-Schleifen, Bänder oder Fasern entstehen. Die meisten Primärstrukturen der selbstorganisierenden Oligomere sind von  $\beta$ -Amyloid-Fasern, die im Zusammenhang mit neurodegenerativen Krankheiten stehen, abgeleitet.<sup>[8, 25, 237-257]</sup> Darüber hinaus bieten Transmembranproteine<sup>[99, 258, 259]</sup> sowie Collagen-Derivate<sup>[260-265]</sup> ein gutes Vorbild für mögliche  $\beta$ -Strukturbildner.

Einige Kernmotive des  $\beta$ -Amyloid-Peptids mit der Aminosäuresequenz: <sup>1</sup>DAEFR-HDGSY-EVHHQ-KLVFF-AEDVG-SNKGAIIGLM-VGGVV<sup>40</sup>-IA<sup>42</sup> stehen im direkten Zusammenhang mit der Ausbildung der  $\beta$ -Faltblatt-Struktur.<sup>[266, 267]</sup> Weitere chemische Modifikationen dieser Design-Elemente – wie beispielsweise Acylierung von KLVFF am N-Terminus – erweitern die Löslichkeit sowie die Möglichkeiten der Assemblierung, sodass eine Selbstorganisation der einzelnen, kurzen Peptidsegmente durch äußere Einflüsse wie pH-Änderung,<sup>[265, 268]</sup> Temperierung,<sup>[243, 264]</sup> enzymatischen Abbau,<sup>[269]</sup> Magnetfeld<sup>[244, 270]</sup> oder UV-Licht<sup>[251]</sup> initiiert werden kann. Das Peptid mit der Sequenz C<sub>16</sub>-KKFFVLK – C<sub>16</sub> ist Palmitinsäure – bildet bereits ab einer geringen Konzentration von nur 1 Gewichtsprozent stabile Nanobänder aus, die deutlich im TEM zu sehen sind. Die entsprechende Probe zeigt die typische Opazität sowie Doppelbrechung eines Flüssigkristalls.<sup>[271]</sup>



**Abb. 2-30** Lösung von 1 Gew% C<sub>16</sub>-KKFFVLK in H<sub>2</sub>O im TEM (links) und angesetzte gelartige Probe (rechts); Abbildungen entnommen aus <sup>[271]</sup>.

Alternativ beschäftigten sich AGGELI ET AL. mit der Transmembranregion eines spannungsgeregelten IsK-Kalium-Kanals. Die zunächst daraus entnommenen, langen Peptide K27, K26<sup>[259]</sup> sowie K24<sup>[272]</sup> – bestehend aus jeweils 27, 26, 24 Aminosäuren – wurden auf ihre Eigenschaft hin, Überstrukturen in Lösung auszubilden, untersucht und davon eine neue Peptidklasse abgeleitet: die P<sub>11</sub>-X-Peptide. Insbesondere das  $\alpha$ -Peptid mit der Bezeichnung P<sub>11</sub>-II oder DN1 sowie der Sequenz CH<sub>3</sub>CO-QQRFQWQFEQQ-NH<sub>2</sub> zeigt in wässrigen Lösungen ab einer kritischen Konzentration starke Selbstassemblierung, die optisch einfach durch Zunahme der Doppelbrechung wie auch Gelierung verfolgt werden kann. Genauere Untersuchungen mittels TEM zeigen die konzentrationsbedingte Ausbildung von Bändern, Schleifen oder Fasern aus  $\beta$ -Faltblatt-Strukturen (vgl. **Abb. 2-31**).<sup>[25, 273]</sup>



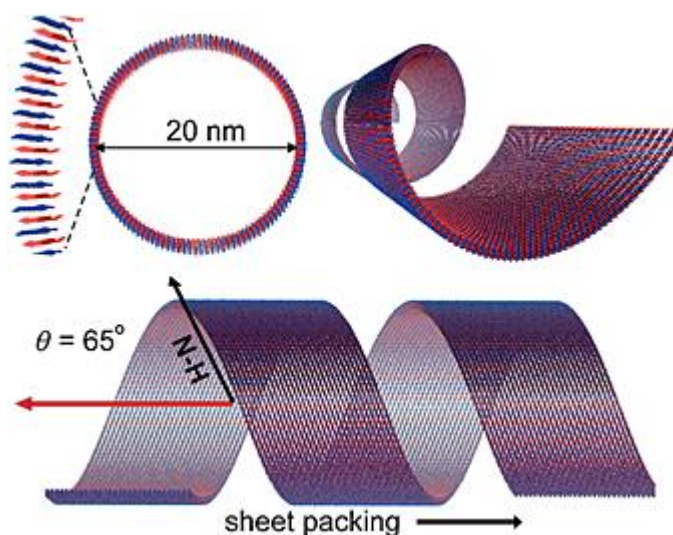
**Abb. 2-31** Beobachtete Aggregatstrukturen und flüssigkristallines Verhalten wässriger Lösungen von P<sub>11</sub>-II mit zunehmender Konzentration  $c$  (logarithmische Skala) nach monatelanger Equilibrierung.  
 (a) Elektronenmikroskopbild von Schleifen ( $c = 0.2$  mM, 4 Monate Equilibrierung);  
 (b) Elektronenmikroskopbild von Fasern ( $c = 6.2$  mM, 4 Monate Equilibrierung);  
 (c) Elektronenmikroskopbild von Fasern ( $c = 6.2$  mM, 1 Monat Equilibrierung);  
 (d) Elektronenmikroskopbild von Fasern ( $c = 6.2$  mM, 1 Monat Equilibrierung);  
 (e) Population der Überstrukturen von P<sub>11</sub>-II mit zunehmender Konzentration  $c$ ;  
 (f) Mit einem Polarisationsmikroskop aufgenommenes Bild von Schlierentexturen ( $c = 3.7$  mM);  
 (g) Selbsttragendes, doppelbrechendes Gel aus P<sub>11</sub>-II ( $c = 6.2$  mM);  
 Abbildungen entnommen aus [25].

Quantitative Untersuchungen des Selbstorganisationsprozesses durch AGGELI ET AL. führten zu einer Weiterentwicklung der Primärstruktur des Peptids, indem an einigen Schlüsselpositionen Aminosäuren mit aromatischen oder aliphatischen Seitenketten eingesetzt wurden. In Folge dessen zeigen sogar kürzere Oligomere als das vorbildgebende Undecamer aufgrund ihres amphiphilen Charakters eine starke Tendenz zur Aggregation sowie Ausbildung von  $\beta$ -Faltblatt-Strukturen. [274, 275]

Zahlreiche Arbeitsgruppen forschen an amphiphilen Peptiden, weil sie wie die  $\beta$ -Amyloid-Derivate eine Assemblierung zu Überstrukturen in wässriger Lösung zeigen. Oftmals sind sie einfacher zu synthetisieren oder aufzureinigen. Vom Aufbau her ähneln diese Moleküle stark den Tensiden und erfüllen allgemein folgende Designprinzipien:

- 1.) polare Aminosäuren am "Kopf" zur Löslichkeitsvermittlung
- 2.) Peptidsequenz mit intermolekularer Wasserstoffbrückenbindung
- 3.) hydrophober Rest als "Schwanz" für hydrophobe Wechselwirkungen
- 4.) medizinisch wirksames Peptid-Epitop (optional)

Die Amphiphilie ist dabei die treibende Kraft der Selbstassemblierung. Während die intermolekularen Wasserstoffbrücken die Ausbildung von  $\beta$ -Faltblattstrukturen fördern,<sup>[83, 276]</sup> aggregieren die hydrophoben Reste und exponieren damit die funktionalisierte Oberfläche.<sup>[83, 277, 278]</sup> Die polaren Aminosäuren am Kopf ermöglichen eine Steuerung der Löslichkeit über pH-abhängig induzierte Ladungen.<sup>[265, 277, 279]</sup> Die Länge der Kohlenstoffkette des hydrophoben Peptidrestes korreliert mit der thermischen Stabilität der erhaltenen Überstruktur.<sup>[83, 278, 280]</sup> Bereits sehr kurze Peptidsequenzen wie beispielsweise A<sub>6</sub>K eignen sich als Segment tensidartiger Peptide. MIDDLETON ET AL.<sup>[281]</sup> untersuchten das Selbstassemblierungsverhalten dieses Oligomers und stellten fest, dass es ab einer kritischen Konzentration von 17 Gewichtsprozent zu helikalen Nanoröhren assembliert. FTIR-Spektrometrie an isotope markierten Peptiden deutete auf die antiparallele Anordnung von  $\beta$ -Faltblatt-Strukturen hin, während die Festkörper-Kernspinresonanzspektroskopie eine bestimmte bevorzugte Ausrichtung der Peptidmoleküle in den Wänden der Nanoröhren identifizierte. Die zugehörige, detaillierte Linienformanalyse der NMR-Peaks deutete an, dass die NH-Bindungen der zusammengelagerten Oligomere 65-70° gegenüber der Längsachse geneigt sind und somit hauptverantwortlich für die 3D-Überstruktur sind.

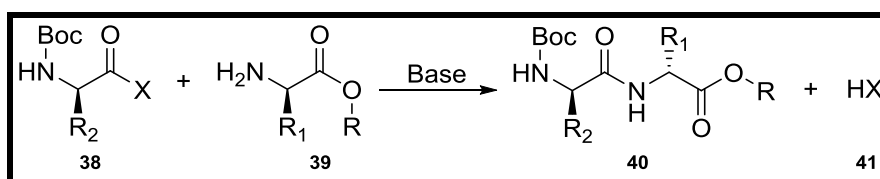


**Abb. 2-32** Modell der Ausbildung von Nanoröhren aus  $\beta$ -Strukturen des Peptids A<sub>6</sub>K;  
Abbildung entnommen aus <sup>[281]</sup>.

Selbstassemblierende Peptide sind aufgrund ihrer starken Tendenz zur Aggregation eine Herausforderung für die chemische Synthese, die im folgenden Kapitel behandelt wird.

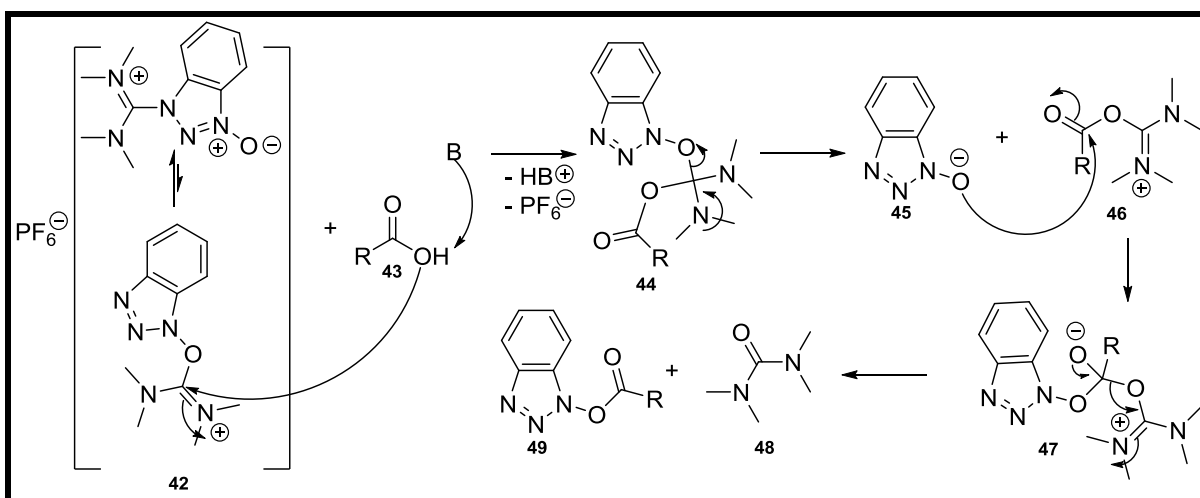
## 2.9. Chemische Synthese von Peptiden

$\beta$ -Peptide und  $\beta$ -Strukturbildner können chemisch auf zwei Arten aufgebaut werden: in Lösung (SPS) oder mit der Festphasenpeptidsynthese (SPPS). Dabei werden die Makromoleküle sequenziell vom C- zum N-Terminus oder in seltenen Fällen umgekehrt aus entsprechenden Aminosäuren aufgebaut, deren Seitenketten mit geeigneten Schutzgruppen vor unerwünschten Nebenreaktionen geschützt sind. Da Aminosäuren untereinander bei Raumtemperatur zu einem Ammonium-Carboxylat-Salz reagieren muss der Carbonsäure-Teil, der mit der vorhergehenden Amino-Funktion unter Wasserabspaltung eine Amidbindung eingehen soll, in eine reaktive Form überführt werden. Für die Peptidsynthese geeignete Vorläufer sind beispielsweise Carbonsäurehalogenide, -anhydride, -aktivester sowie -azide.<sup>[282]</sup>



Sch. 2-9 Reaktion einer aktivierten Aminosäure bei RT, X = gute Abgangsgruppe der aktivierten Aminosäure.

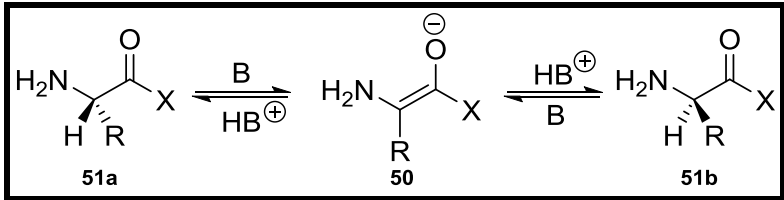
Die Erhöhung der Elektrophilie der Carboxylgruppe einer Aminosäure mithilfe des uronium-basierten Kupplungsreagenzes *N,N,N',N'*-Tetramethyl-O-(1H-benzotriazol-1-yl)uronium hexafluorophosphat (HBTU) ist eine gängige Standardmethode, die oft auch bei der automatisierten Peptidsynthese eine Anwendung findet (vgl. Sch. 2-10). Nachdem die zu aktivierende Carbonsäure mit einer Base (B) deprotoniert worden ist, greift das entstandene Carboxylat nukleophil das positiv geladene Kohlenstoffatom des Uronium-Reagenzes HBTU an. Es bildet sich ein instabiles Intermediat, das kurzzeitig ein 1-Hydroxybenzotriazol-Anion (HOBT) freisetzt. Dieses kuppelt an den Carbonyl-Kohlenstoff der Aminosäure und bewirkt, dass wiederum Tetramethylharnstoff als gute Abgangsgruppe abgespalten wird. Es verbleibt der aktive HOBT-Ester der eingesetzten Carbonsäure bzw. Aminosäure, der nachfolgend zur Amidkupplung bei der Polypeptidsynthese eingesetzt wird.



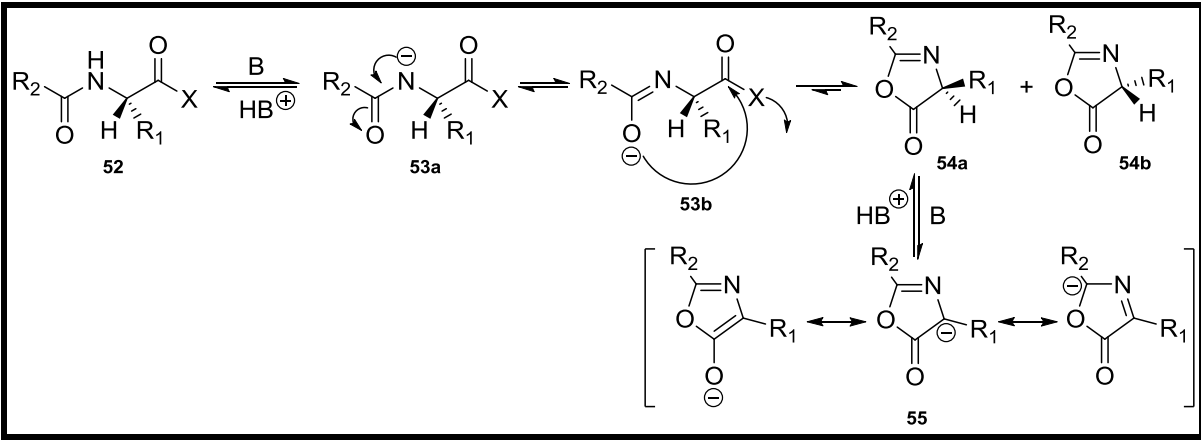
Sch. 2-10 Aktivierung einer Carbonsäure zu einem Aktivester mittels HBTU.

\_\_\_\_\_

- 2.) Zyklisierung zu einem Oxazolone/Azlacton (vgl. Sch. 2-12)



**Sch. 2-11** Eliminierung des  $\alpha$ -Protons einer aktivierten Aminosäure, X = gute Abgangsgruppe, B = Base. <sup>[282, 283]</sup>



**Sch. 2-12** Zyklisierung zu einem Oxazolone einer aktivierten Aminosäure.<sup>[282, 284, 285]</sup>

Nicht alle Racemisierungsvorgänge sind für die Synthese von  $\beta$ -Peptiden von Bedeutung, da sich bei  $\beta$ -Homoamino-säuren das stereogene Zentrum nicht in Nachbarschaft zum Carbonyl-Kohlenstoff befindet.  $\beta^2$ -substituierte Derivate wie auch  $\beta$ -Strukturbildner aus  $\alpha$ -Aminosäuren sind wiederum von dem Enolisierungs-Prozess betroffen (vgl. **Sch. 2-11**). Oftmals ist jedoch die Zyklisierung zu einem Oxazol- bzw. Oxazinon-Derivat diejenige Reaktion, die es zu unterdrücken gilt (vgl. **Sch. 2-12**).<sup>[282, 285]</sup> So ist es meist notwendig, neben den Kupplungsreagenzien Additive, die einer Racemisierung entgegenwirken, zu verwenden. Einige Kupplungsreagenzien beinhalten solche Additive in ihrem Molekül und setzen diese *in situ* frei.

## 2.10. Chemische Synthese von $\beta$ -Peptiden

Obwohl  $\beta$ -Peptide auf den ersten Blick ähnlich hergestellt werden wie  $\alpha$ -Peptide, gibt es gravierende Unterschiede, die die Produktion dieser Makromoleküle in großen Mengen erschweren. Die starke Aggregation während der Synthese macht sich bereits nach wenigen Kupplungszyklen durch Fehlsequenzen sowie eine schlechte Ausbeute bemerkbar. Dies führt zu einem Produktgemisch mit verkürzten Ketten im Fall von Homopolypeptiden oder zu Fehlstellen bei  $\beta$ -Peptiden aus unterschiedlichen Aminosäuren, die chromatographisch nur schlecht voneinander abgetrennt werden können. Die Acylierung des *N*-Terminus nach jeder Kupplung mit einer Carbonsäure wie zum Beispiel Essigsäure hilft, das Trennungsproblem zu umgehen. Zudem fördert das Endcapping die zielgerichtete Selbstassemblierung des finalen Produktes.<sup>[249]</sup> Darüber hinaus wirken chaotrope Substanzen ebenso wie bei der Synthese von  $\alpha$ -Peptiden der Aggregation entgegen.

$\beta$ -Peptide, die aus rigiden, zyklischen  $\beta$ -Aminosäuren wie ACHC aufgebaut sind, besitzen neben der Aggregation während der Synthese den Nachteil, dass die sterisch anspruchsvollen Aminosäuren nicht effizient mit gängigen Kupplungsreagenzien wie HBTU aktiviert und gekuppelt werden können. APPELLA und POMERANTZ aus der Arbeitsgruppe von Prof. GELLMAN haben einige Lösungsansätze für dieses Problem veröffentlicht.<sup>[109, 126, 286, 287]</sup> Erste Synthesen von ACHC-Oligomeren wurden in Lösung (SPS) mittels Fragmentkondensation durchgeführt, wobei als Kupplungsreagenzien EDC mit DMAP zum Einsatz kamen.<sup>[126]</sup> Alternativ dazu wurde bei der automatisierten, linearen Synthese auf fester Phase (SPPS) die Standard-Kupplungsmethode mit HBTU angewandt, während Mikrowellenstrahlung die Reaktionsgeschwindigkeit durch gezielte thermische Anregung stark erhöhte.<sup>[287]</sup> Eine weitere Methode, sterisch gehinderte Moleküle mithilfe von selektiven Fluorierungsreagenzien wie Selectfluor<sup>TM</sup>, DAST oder Deoxo-Fluor<sup>TM</sup> zu fluorieren, wurde von SCHWERTFEGER AT AL. erfolgreich eingesetzt.<sup>[288]</sup> Diese bietet den Vorteil, dass eine sterisch gehinderte Carbonsäure zu einem Carbonsäurefluorid aktiviert werden kann und die sterische Hinderung bei der nachfolgenden Kupplungsreaktion mit einem Amin aufgrund der kleinen Molekülgröße der aktivierten funktionellen Gruppe keine große Rolle mehr spielt.

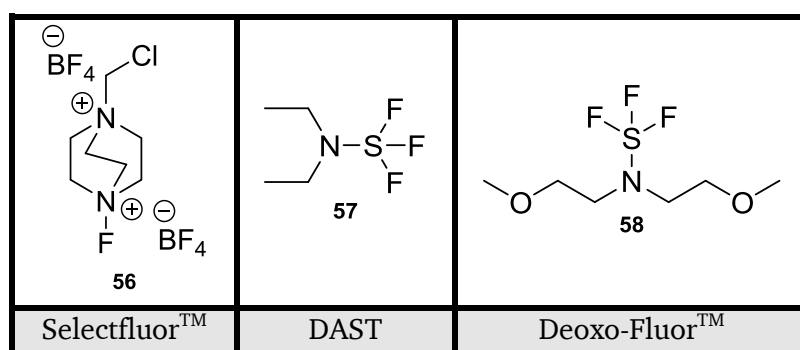


Abb. 2-33 Beispiele für selektive Fluorierungsreagenzien.

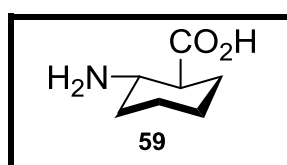


Abb. 2-34 (1*S*,2*S*)-2-Aminocyclohexancarbonsäure (ACHC) als Beispiel für eine sterisch gehinderte  $\beta$ -Aminosäure.



Die SPPS von  $\beta$ -Peptiden mit einem automatischen, mikrowellengestützten Peptidsynthesizer nutzt die sogenannte SHEPPARD-Taktik der Fmoc/tBu-Schutzgruppenstrategie<sup>[289]</sup> und erfordert die optimale Kombination aus Harz mit Linker, um am Ende ein möglichst reines Produkt erhalten zu können. Die Harz-Polymer-Matrix steuert das Quellverhalten, die Hydrolyse- sowie die Temperaturstabilität des Trägermaterials. Die semipermanenten Bindegruppen bestimmen die Stärke der Bindung des Peptids am Träger und die Effizienz der Beladung mit der ersten Aminosäure. Darüber hinaus steuert der Linker, wie das vom Harz abgespaltene Peptid am C-Terminus vorliegt – als ein Amid oder eine Carbonsäure.

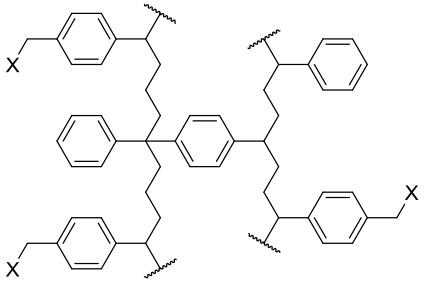
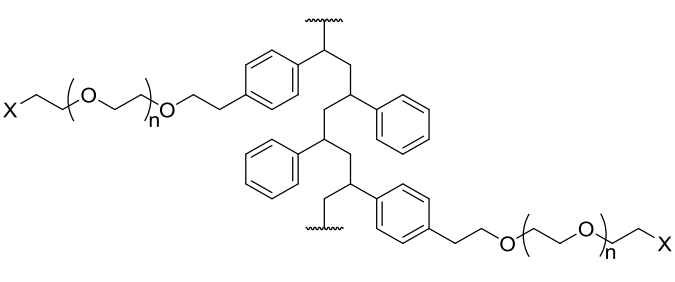
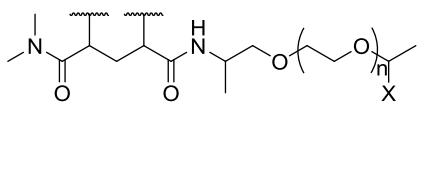
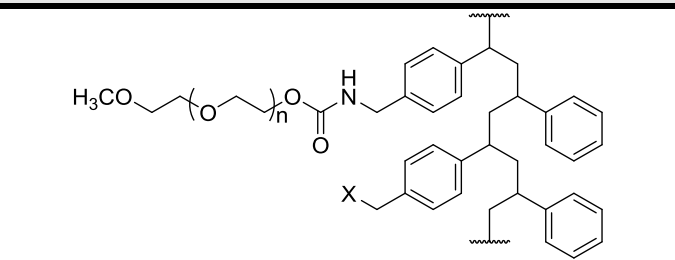
Merrifield-Harz	Tentagel-Harz
	
Polystyrol quervernetzt mit 1% Divinylbenzol	Polystyrol-Polyethylenglycol-Propfcopolymer
PEGA-Harz	Novagel™-Harz
	
Acrylamid-Polyethylenglycol-Copolymer	Polystyrol-Polyethylenglycolamid-Propfcopolymer

Abb. 2-35 Häufig verwendete Harz-Matrizen für die SPPS mit starkem Quellverhalten, X = Linker-Gruppe.

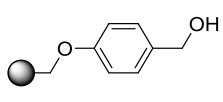
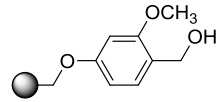
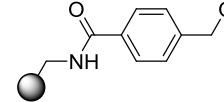
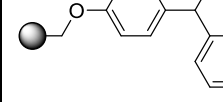
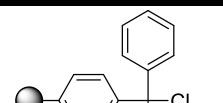
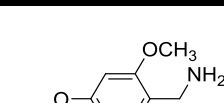
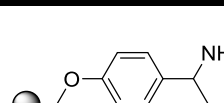
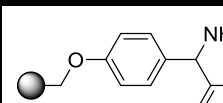
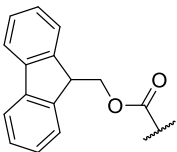
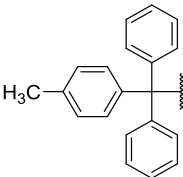
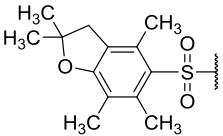

			
Wang-	Sasrin-	HMBA-	Rink-Säure-
			
2-Chlortriylchlorid-	PAL-	Sieber-	Rink-Amid-

Abb. 2-36 Häufig verwendete Linker-Gruppen für den C-Terminus der ersten Aminosäure einer Peptidsequenz.

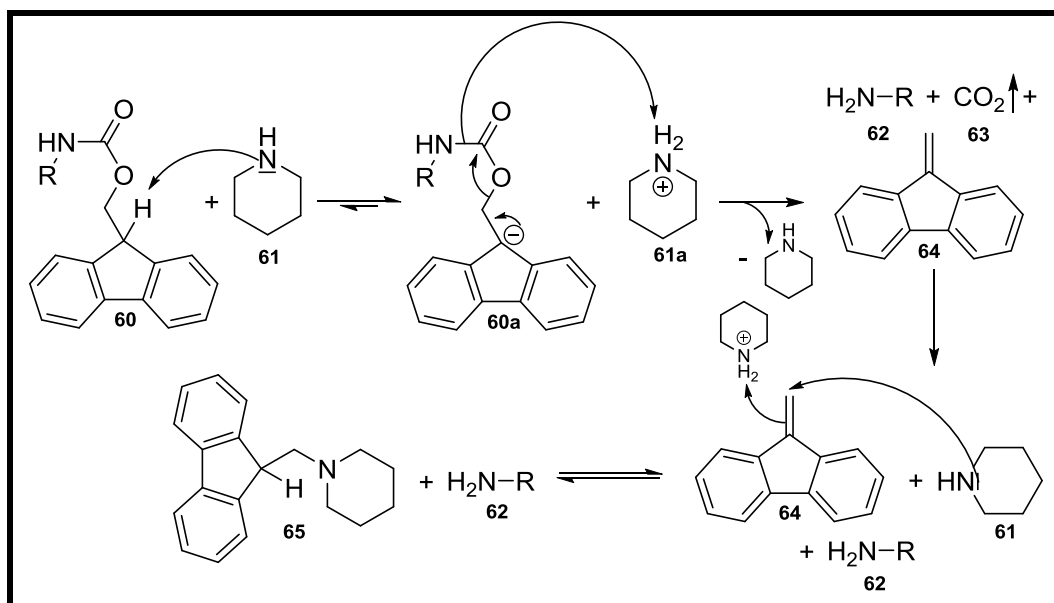
Für die Synthese von Peptiden mittels SPPS sind Harze mit einem starken Quellverhalten (vgl. **Abb. 2-35**) besonders vorteilhaft, denn sie ermöglichen aufgrund der größeren Poren den einfachen Fluss der Reagenzien zum Reaktionsort. Ein Nachteil ist jedoch die niedrige Beladungsdichte, die auf solchen Harzen erreicht werden kann und zu geringerer Produktbildung pro Gramm an Trägermaterial führt.

Da bei der finalen Abspaltung der fertiggestellten Peptide viele unerwünschte Nebenprodukte anfallen, die zum Beispiel aus einem wahllosen Wiederanbinden der Schutzgruppen an die Seitenketten resultieren, werden den Abspaltungs-Cocktails sogenannte Scavenger zugesetzt. Sie sollen alle reaktiven Moleküle abfangen, noch ehe diese das Produkt verunreinigen. Im einfachsten Fall genügt die Zugabe von H<sub>2</sub>O, Silanen oder Thiolen.

Fmoc/tBu-Strategie SPPS (Sheppard-Taktik)			
			
<b>Fmoc:</b> 9-Fluorenyl- methoxycarbonyl-	<b>Mtt:</b> 4-Methyltrityl-	<b>Pbf:</b> 2,2,4,6,7- Pentamethyldihydrobenzofuran-5- sulfonyl-	<b>tBu:</b> tert-Butyl-

**Abb. 2-37** Häufig verwendete Schutzgruppen der SHEPPARD-Taktik, Aminosäuren: N<sub>α</sub>-Terminus (links) – Seitenketten (rechts).

Schließlich besitzt die Festphasenpeptidsynthese trotz des Vorteils der Automatisierbarkeit den Nachteil, dass der Reaktionsfortschritt im Gegensatz zur Arbeit in Lösung nicht durch einfache Analysemethoden verfolgt werden kann. Die am Kunststoffharz gebundenen Peptide müssen erst umständlich an den entschützten Endgruppen mit Färbungsreagenzien wie TNBS, Chloranil, Bromphenolblau oder Ninhydrin derivatisiert und unter dem Mikroskop betrachtet werden. Quantitative Aussagen zur Ausbeute sowie Produktqualität sind jedoch nur nach Untersuchungen von abgespaltenen Zwischenproben mittels RP-HPLC oder nach entsprechender Derivatisierung mit Fluoreszenzreagenzien möglich. Einige Peptidsynthesizer erlauben eine Einschätzung des Reaktionsfortschritts bei der Abspaltung der terminalen Fmoc-Schutzgruppe zwischen den Kupplungszyklen, indem sie die UV-Absorption des entsprechenden Chromophors im Abfalllösemittelstrom messen. Diese Methode, den Verlauf der Peptidsynthese nachzuverfolgen, wurde bereits 1989 schematisch von ATHERTON und SHEPPARD in der Literatur beschrieben (vgl. **Sch. 2-13**).<sup>[290]</sup>



Sch. 2-13 Fmoc-Abspaltung mittels Piperidin; Produkt Dibenzofulvenaddukt **65** wird detektiert.

---

### 3. Aufgabenstellung

---

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, neuartige  $\beta$ -Peptide sowie  $\beta$ -Strukturbildner zu synthetisieren und als lyotrope flüssigkristalline Phasen für die NMR zu testen.

Zunächst soll ein aus der Veröffentlichung von THIELE und GELLMAN literaturbekanntes, selbstassemblierendes  $\beta$ -Peptid **66**<sup>[14]</sup> ( $6\text{-}\beta^3\text{hY}\text{-}[\text{ACHC-ACHC-}\beta^3\text{hK}]_3\text{-NH}_2$ ), dessen Anwendbarkeit als Orientierungsmedium bereits nachgewiesen worden ist, mittels Festphasenpeptidsynthese hergestellt werden, um die dabei eventuell auftretenden Schwierigkeiten zu identifizieren. Dazu soll die benötigte, strukturgebende  $\beta$ -Aminosäure (1*S*,2*S*)-*trans*-2-Aminocyclohexan-1-carbonsäure (ACHC) nach der Methode von SCHINNERL ET AL.<sup>[291]</sup> in größerem Maßstab hergestellt und anschließend mit den Homologa geschützter  $\alpha$ -Aminosäuren, die nach einem modifizierten Verfahren von ARNDT-EISTERT<sup>[177]</sup> produzierbar sind, zu dem Zielpeptid umgesetzt werden.

Eine erwartete Herausforderung für die Synthese von selbstassemblierenden Peptiden stellt die für diese Molekülklasse typische Tendenz zur Aggregation dar, die sich negativ auf die Ausbeute sowie die Reinheit auswirken kann. Entsprechend spielt die Wahl der Synthesebedingungen, Reagenzien sowie technischer Hilfsmittel eine große Rolle. Bei  $\alpha$ -Peptiden, die zur Aggregation neigen, hat sich unter anderem der Einsatz von Mikrowellenstrahlung zur gezielten, thermischen Anregung bewährt, um diesen Nachteil zu überwinden.<sup>[292]</sup> Dementsprechend besteht der begründete Verdacht, dass ein Peptidsynthesizer mit einem mikrowellengestützten Reaktor eine große Erleichterung für die gestellte Synthesaufgabe mit sich bringen wird. Ein passendes Gerät der Firma CEM ist bereits zu Projektbeginn vorhanden.

In Anlehnung an die Primärstruktur des zuvor erwähnten, literaturbekannten  $\beta$ -Peptids sollen neuartige, in der Literatur bisher unbekannte  $\beta$ -Peptide **67-69** ( $\text{Ac-}[\beta^3\text{hK}]_7\text{-NH}_2$ ,  $\text{H-}[\beta^3\text{hE(Bzl)}\text{-}\beta^3\text{hE(Bzl)}\text{-}\beta^3\text{hK}]_4\text{-OH}$ ,  $\text{H-}[\beta^3\text{hE(Bzl)}\text{-}\beta^3\text{hE(Bzl)}\text{-}\beta^3\text{hK}]\text{-}[\beta^3\text{hE(Bzl)}]_3\text{-}[\beta^3\text{hE(Bzl)}\text{-}\beta^3\text{hE(Bzl)}\text{-}\beta^3\text{hK}]_2\text{-OH}$ ) gestaltet und synthetisiert werden, die ebenfalls eine Selbstassemblierung in Lösung aufweisen sollen. Die erhaltenen Sekundärstrukturen sollen mittels CD-Spektroskopie untersucht und auf ihre Brauchbarkeit als Orientierungsmedien für die NMR hin getestet werden. Die gewünschten Attribute – ein skalierbarer Ordnungsgrad der Mesogene, eine Enantiodifferenzierung des eingebrachten Analyten sowie eine Kompatibilität zu gängigen NMR-Lösungsmitteln – sollen nachgewiesen werden.

Zusätzlich soll ein in der Literatur unbekanntes  $\beta$ - $\gamma$ -Peptid **70** ( $6\text{-}\beta^3\text{hY}\text{-}[\text{Ada}^{\text{Gly}}\text{-Ada}^{\text{Gly}}\text{-}\beta^3\text{hK}]_3\text{-NH}_2$ ), das überwiegend die konformationell eingeschränkte  $\gamma$ -Aminosäure (1*r*, 3*s*, 5*R*, 7*S*)-3-Aminoadamantan-1-carbonsäure ( $\text{Ada}^{\text{Gly}}$ ) in der Primärstruktur enthält, auf dieselbe Art wie zuvor geschildert synthetisiert und charakterisiert werden. Der Einfluss der rigiden Aminosäure auf die Selbstassemblierung in Lösung sowie eine potenzielle Verwendung als Orientierungsmedium sollen geklärt werden.

Parallel zu  $\beta$ -Peptiden soll ein  $\beta$ -Strukturbildner **72** ( $\text{Ac-Q-Q-R-F-Q-W-Q-F-E-Q-Q-NH}_2$ ) – ein aus  $\alpha$ -Aminosäuren aufgebautes Peptid – aus der Literatur ausgewählt und synthetisiert werden, dessen berichtete Eigenschaften in Lösung stark denen einer LLC-Phase ähneln.<sup>[25]</sup> Bei einer möglichen Nutzbarkeit als Orientierungsmedium für RDC-Messungen in der NMR sollen chemische Modifikationen des *N*-Terminus sowie der Seitenketten durchgeführt werden.

---

Der resultierende Einfluss auf die Ausbildung einer stabilen Sekundärstruktur mit flüssigkristallinen Eigenschaften ist zu charakterisieren.

Die erhaltenen Ergebnisse zu den untersuchten  $\beta$ -Peptiden sowie  $\beta$ -Strukturbildnern sollen eine generelle Aussage über den Nutzen dieser Molekülklassen als Orientierungsmedien für die NMR erlauben.

## 4. Ergebnisse und Diskussion

### 4.1. Charakterisierung ausgewählter $\beta$ -Peptide

In der Literatur sind zahlreiche  $\beta$ -Peptide bekannt, die hauptsächlich in den Arbeitsgruppen von SEEBACH und GELLMAN synthetisiert worden sind. Jedoch sind nur wenige der hergestellten Verbindungen auf ihre Eigenschaft, eine LLC-Phase ausbilden zu können, untersucht worden. Im Folgenden werden sowohl bekannte als auch neue  $\beta$ -Peptide erzeugt, ihre flüssigkristalline Morphologie im Detail betrachtet und anschließend die Brauchbarkeit als ein Orientierungsmedium in der RDC-NMR-Spektroskopie ermittelt.

#### 4.1.1. ACHC-basiertes $\beta$ -Peptids **66**: $6\text{-}\beta^3\text{hY-[ACHC-ACHC-}\beta^3\text{hK]}_3\text{-NH}_2$

APPELLA, ABELE, POMERANTZ, MÜLLER und MURRAY aus der Arbeitsgruppe GELLMAN haben ACHC-basierte  $\beta$ -Peptide hergestellt, deren Strukturen in Lösung hinreichend untersucht worden sind.<sup>[13, 109, 126, 127, 286, 287, 293-299]</sup> Darüber hinaus hat THIELE bereits eine erste Anwendung eines dieser Moleküle als Orientierungsmedium für die NMR bewiesen.<sup>[14]</sup> Aufbauend auf diesen veröffentlichten Ergebnissen wird zunächst eine größere Menge des literaturbekannten  $\beta$ -Peptids  $6\text{-}\beta^3\text{hY-(ACHC-ACHC-}\beta^3\text{hK)}_3$  **66** (vgl. Abb. 4-1) hergestellt, um weitere Versuche bezüglich der Kompatibilität der LLC-Phase zu organischen Lösemitteln durchzuführen.

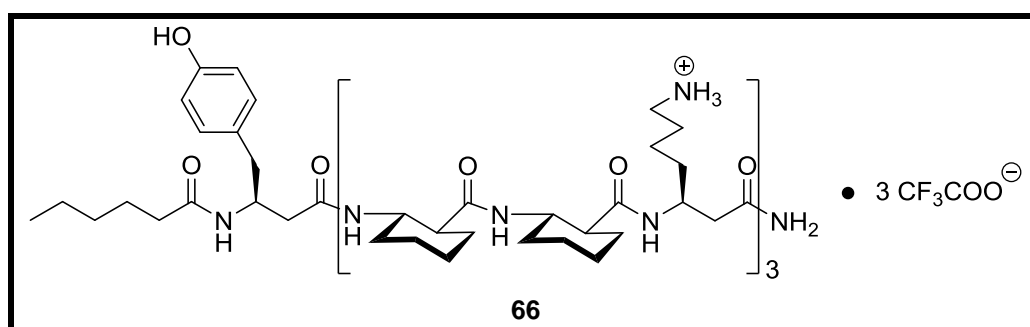
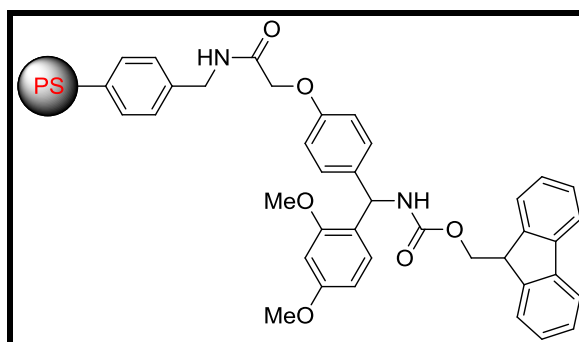


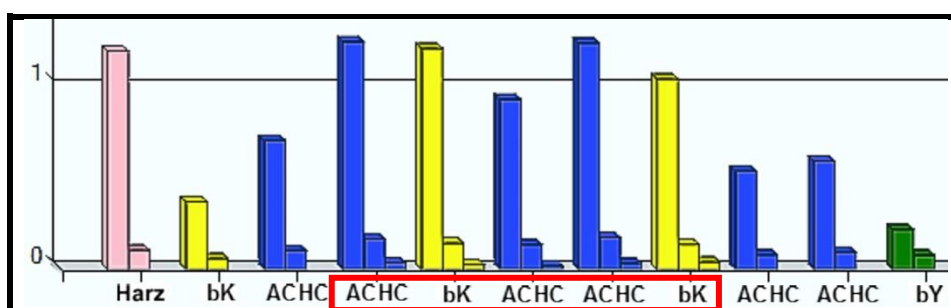
Abb. 4-1 LLC-phasenbildendes  $\beta$ -Peptid **66** mit der sterisch anspruchsvollen, zyklischen  $\beta$ -Aminosäure ACHC,  $M_w = (1469.98 + 342.06)$  Da.<sup>[14]</sup>

In Anlehnung an die aktuellsten Veröffentlichungen von MURRAY<sup>[297, 298]</sup> und MÜLLER<sup>[300]</sup> wurde für die Festphasensynthese des  $\beta$ -Peptids **66** (vgl. Abb. 4-1) ein temperaturstabiles Harz mit einem Rink-Amid-Linker verwendet, das die zielgerichtete Erwärmung auf 90°C mittels eines Mikrowellenreaktors überstehen konnte (vgl. Abb. 4-2). Die Erstbeladung wurde mit 0.14 mmol/Gramm Harz bewusst niedrig gewählt, um der Aggregation sowie der sterischen Hinderung von ACHC entgegenzuwirken. Als Kupplungsreagenz wurde eine Lösung aus HBTU/HOBT in DMF als Aktivator in Kombination mit DIPEA in NMP als Base eingesetzt, während die benutzten  $\beta$ -Aminosäuren entsprechend der SHEPPARD-Taktik (Fmoc/tBu) geschützt waren. Die Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe pro Kupplungszyklus erfolgte mit 20% (vol.) Piperidinlösung in DMF. Nach der sequenziellen Herstellung des Peptids wurde es am N-Terminus mit Hexansäureanhydrid acyliert und final mit 90% (vol.) TFA (inklusive Scavenger) abgespalten.



**Abb. 4-2** Fmoc-Rink-Amid-AM-Harz für die Synthese  $\beta$ -Peptids **66**, PS = quervernetztes Polystyrol.

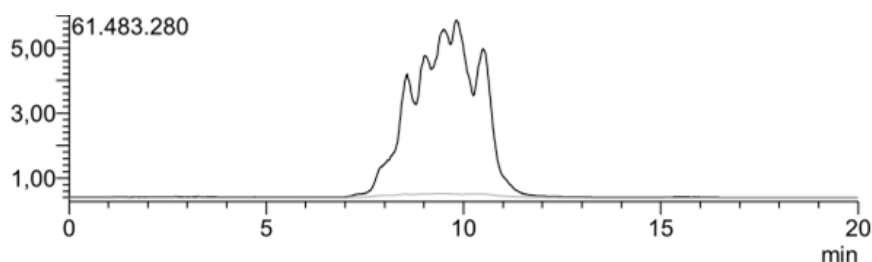
Während der Peptidsynthese wurde bei der Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe die Absorption des Dibenzofulvenaddukts im Abfallstrom des Peptidsynthesizers mittels eines UV-Monitors detektiert, sodass eine qualitative Aussage über die Konzentration dieses Moleküls möglich war. Bei einsetzender Aggregation war der *N*-Terminus des Peptids schlecht zugänglich und die entsprechende Schutzgruppe wurde nicht mehr vollständig abgespalten. Eine grafische Auftragung der Absorption pro Abspaltungszyklus erlaubte es, den Zeitpunkt zu erkennen, wann die ersten Probleme in der Synthese auftraten, um diesen beim nächsten Mal mit geeigneten Maßnahmen entgegenzuwirken. Standardmäßig wurde die Fmoc-Abspaltung zwei Mal durchgeführt und die Intensitäten miteinander verglichen. Wenn die zweite Intensitätsmessung mehr als 5 Prozent der ersten betrug, wurde die Abspaltung der Schutzgruppe wiederholt.



**Abb. 4-3** Grafische Auftragung der Konzentration des Dibenzofulvenaddukts im Abfallstrom während der automatisierten Peptidsynthese des  $\beta$ -Peptids **66**; Reihenfolge Kupplungszyklen von links nach rechts.

Der UV-Monitor zeigte deutlich durch einen weiteren Balken mehr als bei der Standardeinstellung für zwei Fmoc-Abspaltungen, dass bereits nach der Kupplung der dritten  $\beta$ -Aminosäure Probleme bei der Fmoc-Abspaltung auftraten (vgl. **Abb. 4-3**). Es war davon auszugehen, dass nachfolgende Kupplungsreaktionen nicht mehr quantitativ abliefen. Die Aggregation konnte bei einem solchen kurzen Oligomer nicht allein ausschlaggebend sein. Vielmehr war die strukturelle Beschaffenheit der konformationell eingeschränkten Aminosäure ACHC ein Grund für den schlechten Umsatz. Als Produkt wurde ein Gemisch erwartet, das mindestens fünf Nebenprodukte enthielt, da erfahrungsgemäß nach jeder fehlgeschlagenen Fmoc-Abspaltung die Deletion einer Aminosäure in der Peptidsequenz erfolgt.

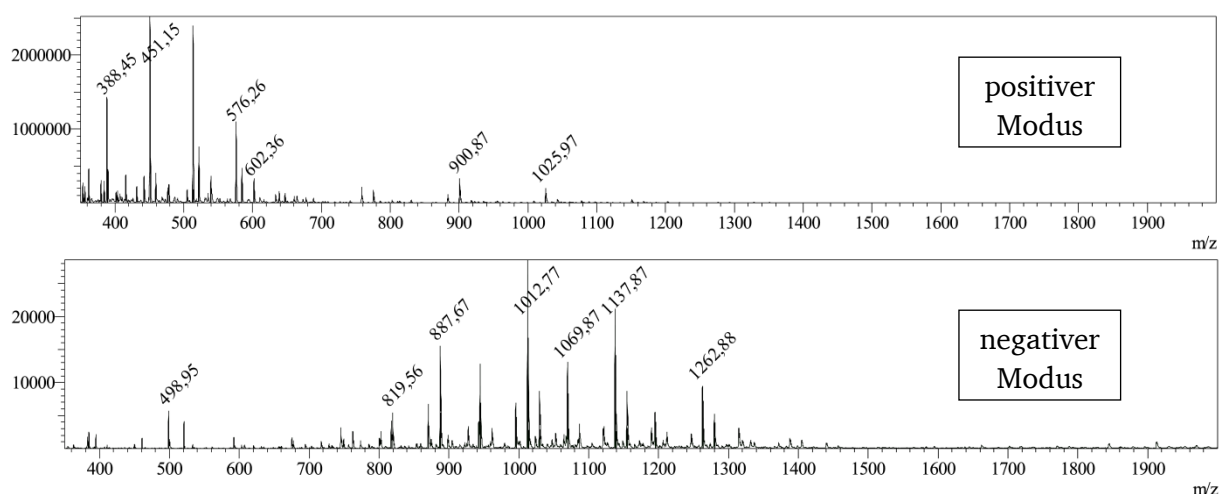
Das acylierte  $\beta$ -Peptid wurde vom Harz mit einer Ausbeute von ca. 19% abgespalten und eine Analyse mithilfe HPLC gekoppelter ESI-Massenspektrometrie (HPLC-ESI-MS) durchgeführt (vgl. Abb. 4-4, Abb. 4-5).



**Abb. 4-4** ESI-MS-HPLC-Chromatogramm des Roh- $\beta$ -Peptids **66** ( $6\text{-}\beta^3\text{hY-(ACHC-ACHC-}\beta^3\text{hK)}_3\bullet 3\text{-TFA}$ ), 5 - 15 Min. Gradient 2-100%B (Acetonitril)

Das HPLC-Chromatogramm (vgl. Abb. 4-4) zeigte, dass die Hauptfraktion wie vermutet aus mindestens fünf differenzierbaren Oligomeren bestand, die ein ähnliches Retentionsverhalten auf einer RP-HPLC-Säule zeigten. Dies sprach für Peptidsequenzen, die sich um ein bis zwei Aminosäuren voneinander unterschieden.

Das zugehörige MS-ESI-Chromatogramm (vgl. Abb. 4-5) identifizierte 6 bis 7 eindeutige Massenpeaks, die jedoch auch zu Peptidfragmenten gehören könnten, die an ACHC-Positionen ionisiert worden sind.



**Abb. 4-5** Gemittelte ESI-Massenpeaks der HPLC-Hauptfraktion bei 18 - 69% B (Acetonitril); ohne Molekülpeak.

**Tab. 4-1** Massentabelle zum Roh- $\beta$ -Peptid **66** aus ESI-MS-HPLC-Spektrum (positiver Modus).

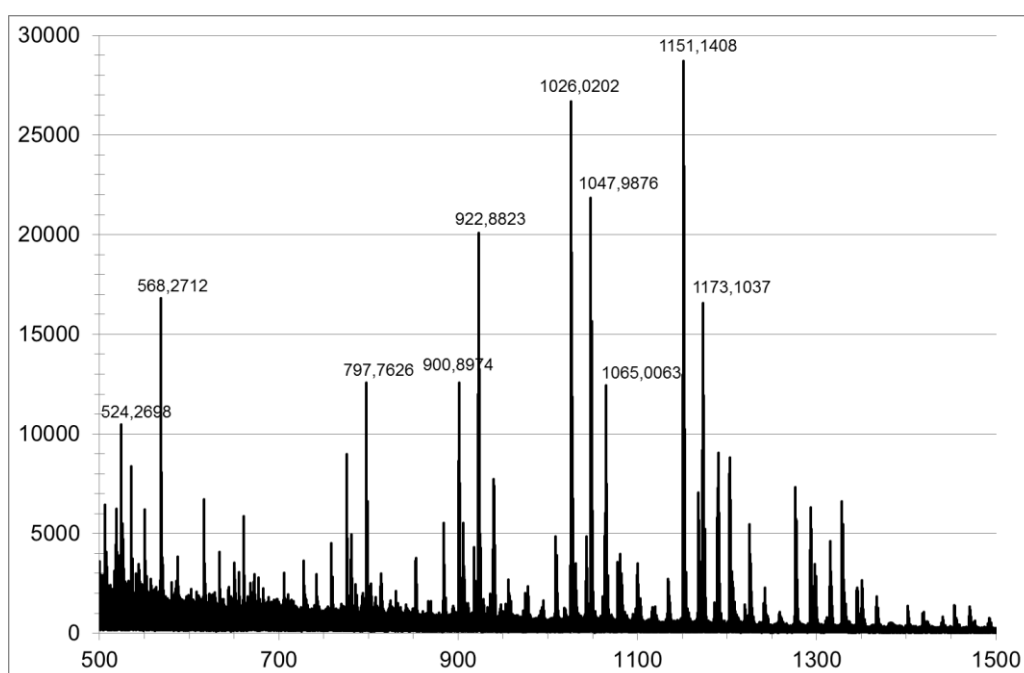
Masse gem. [Da]	Masse ber. [Da]	Fragment
388.45	388.42	$[\text{M-5ACHC-2}\beta^3\text{hK-}\beta^3\text{hY+Na}]^+$
451.15	451.45	$[\text{M-4ACHC-3}\beta^3\text{hK-6+Na}]^+$
576.26	576.77	$[\text{M-6ACHC-}\beta^3\text{hK+H}]^+$
602.36	602.79	$[\text{M-5ACHC-}\beta^3\text{hK+H}]^+$
900.87	900.24	$[\text{M-2ACHC-}\beta^3\text{hK-}\beta^3\text{hY+H}]^+$
1025.97	1025.41	$[\text{M-ACHC-}\beta^3\text{hK-}\beta^3\text{hY+H}]^+$



**Tab. 4-2** Massentabelle zum Roh- $\beta$ -Peptid **66** aus ESI-MS-HPLC-Spektrum (negativer Modus).

Masse gem. [Da]	Masse ber. [Da]	Fragment
498.95	500.68	$[M-2ACHC-\beta^3hK-\beta^3hY-6-H]^-$
819.56	819.12	$[M-3ACHC-\beta^3hY-6-H]^-$
887.67	888,72	$[M-4ACHC-\beta^3hK-\beta^3hY+TFA]^-$
1012.77	-	nicht identifiziert
1069.87	1069.46	$[M-3ACHC-\beta^3hY-6-H]^-$
1137.87	-	nicht identifiziert
1262.88	-	nicht identifiziert

Um sicher zu gehen, dass keine Fragmentierung während der Analyse stattfand, wurde das  $\beta$ -Peptidgemisch mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie untersucht (vgl. **Abb. 4-6**).



**Abb. 4-6** MALDI-TOF-Massenspektrum des  $\beta$ -Peptids **66** zeigt Oligomere mit AS-Deletionen.

**Tab. 4-3** Massentabelle zum Roh- $\beta$ -Peptid **66** aus MALDI-TOF-Massenspektrum.

Masse gem. [Da]	Masse ber. [Da]	Fragment
524.2698	524.73	$[M-5ACHC-\beta^3hK-\beta^3hY]$
568.2712	568.78	$[M-5ACHC-\beta^3hY-6]$
797.7626	797.96	$[M-3ACHC-\beta^3hK-\beta^3hY+Na]$
900.8974	901.13	$[M-2ACHC-\beta^3hK-\beta^3hY+H]$
922.8823	924.12	$[M-2ACHC-\beta^3hK-\beta^3hY+Na]$
1026.0202	1026.32	$[M-ACHC-\beta^3hK-\beta^3hY+H]$
1047.9876	1049.31	$[M-ACHC-\beta^3hK-\beta^3hY+Na]$
1065.0063	1065.42	$[M-ACHC-\beta^3hK-\beta^3hY+K]$
1151.1408	1151.58	$[M-\beta^3hK-\beta^3hY+H]$
1173.1037	1173.57	$[M-\beta^3hK-\beta^3hY+Na]$

Die milde Ionisierungsmethode der MALDI-TOF-Massenspektrometrie erlaubte es, ganze Peptide und sogar Proteine zu identifizieren, ohne dass diese in Bruchstücke zerlegt wurden.<sup>[301]</sup> Dementsprechend bestätigte das zum  $\beta$ -Peptid **66** zugehörige Spektrum (vgl. **Abb. 4-6**), dass nach der Abspaltung des Produkts vom SPPS-Harz ein Gemisch vorlag. Insbesondere die  $\beta$ -Aminosäure ACHC schien mehrfach in der Sequenz zu fehlen, was für einen schlechten Kupplungsumsatz dieses Moleküls sprach.

Gemäß den Veröffentlichungen von APPELLA ET AL.<sup>[109, 126]</sup> zeigten CD-Spektren, dass auch kürzere ACHC-Peptid-Derivate einer Selbstassemblierung in Lösung unterlagen. Aus diesem Grund wurde versucht, eine LLC-Phase aus dem erhaltenen Peptidgemisch anzusetzen und mögliche kooperative Effekte der Oligomere unterschiedlicher Länge zu beobachten.

**Tab. 4-4** Zugabe des  $\beta$ -Peptidgemischs **66** zu D<sub>2</sub>O und Beobachtung der Selbstassemblierung (Gelierung, Doppelbrechung).

<b>Konzentration [m%]</b>	5,4	10,2	15,3	20,1	40,3
<b>LLC-Phase [ja/nein]</b>	nein	nein	nein	nein	nein

In allen fünf Ansätzen unterschiedlicher Konzentration (vgl. **Tab. 4-4**) konnte keine Ausbildung einer LLC-Phase festgestellt werden. Selbst bei einer hohen Peptidkonzentration von ca. 40 Massenprozent ist die Lösung nach längerem Stehenlassen (7 bis 14 Tage) bei Raumtemperatur nur trüb geworden. Eine typische Doppelbrechung der Probe wie sie bei flüssigkristallinen Phasen beobachtet wird, war nicht vorhanden.

Da bei der automatisierten Peptidsynthese Probleme sowohl während der Kupplungszyklen als auch der Fmoc-Abspaltung aufgetreten sind, wurde versucht, nachfolgende Herstellungsverfahren bezüglich der verwendeten Reagenzien zu optimieren (vgl. **Tab. 4-5**).

In der Peptidsynthese ist bekannt, dass das phosphorbasierte Kupplungsreagenz Benzotriazol-1-yl-oxytripyrrolidinophosphoniumhexafluorophosphat (PyBOP) bei schwierigen Synthesen eine höhere Effizienz und Produktreinheit erreicht als das uroniumbasierte HBTU. Besonders die Fragmentkondensation, mit deren Hilfe aus Peptidoligomeren ganze Proteine aufgebaut werden können, profitiert von den chemischen Eigenschaften dieses Moleküls. Da es bei der Synthese des  $\beta$ -Peptids **66** zu Problemen bei der Aktivierung der  $\beta$ -Aminosäuren kam, kann PyBOP zu einem höheren Kupplungsumsatz führen.

Neben der gängigen Methode die *N*-terminale Fmoc-Schutzgruppe mit einer 20%-igen (vol.) Piperidinlösung zu entfernen, erhöht der Zusatz an 2% (vol.) DBU deutlich die Wirksamkeit dieser Reaktion. In der Literatur wird dieses Reagenz bei der manuellen Peptidsynthese sogar bevorzugt eingesetzt, weil die Schutzgruppe damit quantitativ entfernt werden kann.<sup>[302]</sup>

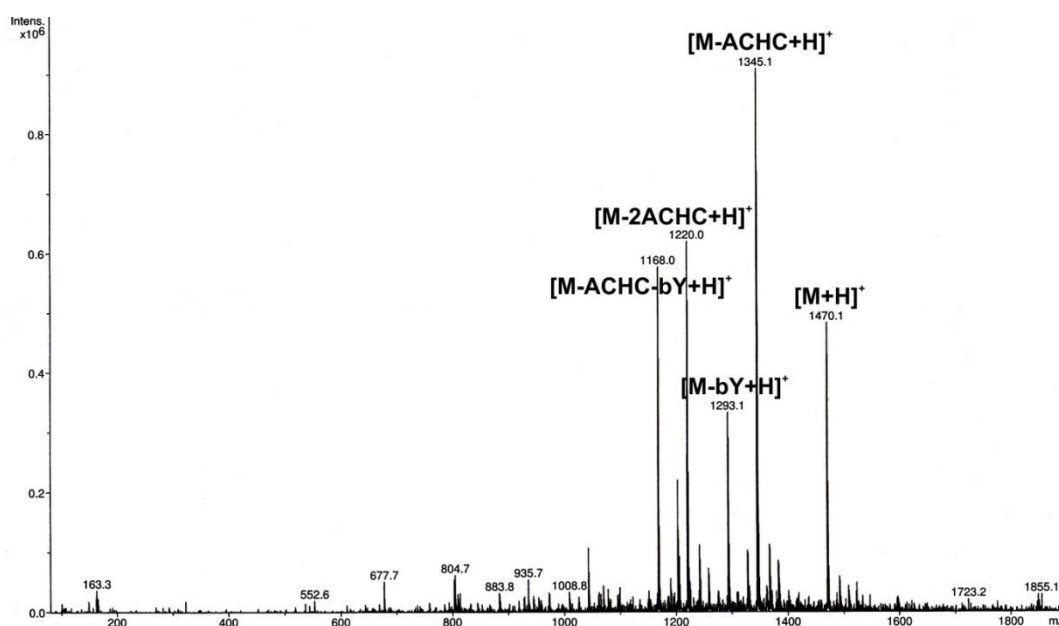
Die Zusammensetzung der Harz-Kunststoffmatrix kann ebenfalls positive Effekte auf die SPPS haben, denn das Quellverhalten des Trägermaterials hat einen Einfluss auf die lokale Diffusion. Je stärker das Polymer im verwendeten Lösemittel aufquillt, desto mehr gelöste Edukte gelangen durch die größeren Poren zum Reaktionsort am Linker. Tentagel-Harz enthält Polyethylenglykol-Bausteine, die zu einem sehr weitmaschigen Polymernetz führen.

Tab. 4-5 Beispiele automatisierter Peptidsynthesen des  $\beta$ -Peptids **66** mit optimierten Bedingungen.

Synthese #	2	3	4	5 (20% DMSO)
Aktivator [eq]	2.5 PyBOP HOBT	3 PyBOP HOBT	3 HBTU HOBT	3 HBTU HOBT
DIPEA [eq]	5	6	6	6
$\beta$ -AA [eq]	2.5	3	3	3
Fmoc-Dep. [vol%]	20 Pip.	20 Pip. 2 DBU	20 Pip.	20 Pip.
Harz	Tentagel-S- RAM	Rink-Amid- AM	Tentagel-S- RAM	Tentagel-S- RAM
Beladung [mmol/g]	0.24	0.48	0.24	0.24
Ausbeute Rohpeptid [%]	5.1	5.4	9.3	25.3

Die Chromatogramme des UV-Monitorings sowie die MS-ESI-Massenspektren der erhaltenen Produkte aus den modifizierten, automatischen Synthesen wiesen darauf hin, dass die sonst für die Peptidsynthese hilfreichen Maßnahmen wirkungslos und sogar kontraproduktiv gewesen sind. Die Kupplungseffizienz sowie die Gesamtausbeute konnten nicht gesteigert werden.

Eine wichtige Beobachtung war die Tatsache, dass die  $\beta$ -Aminosäuren – insbesondere ACHC – im Laufe der automatisierten Synthese aus dem Lösungsmittel DMF ausfielen. Dies führte mit zunehmender Anzahl an Kupplungszyklen zu Fehlfunktionen, indem wichtige Ventile im Peptidsynthesizer verstopften und die druckkalibrierte Dosierung der Reagenzlösungen nicht mehr richtig funktionierte. Der Zusatz von 20% (vol.) DMSO zum DMF schaffte Abhilfe. Das zugehörige MS-ESI-Massenspektrum identifizierte sogar erstmalig den  $[M+H]^+$ -Massenpeak (1470.1 Da) des  $\beta$ -Peptids **66** mit einer vergleichsweise hohen Intensität (vgl. Abb. 4-7).



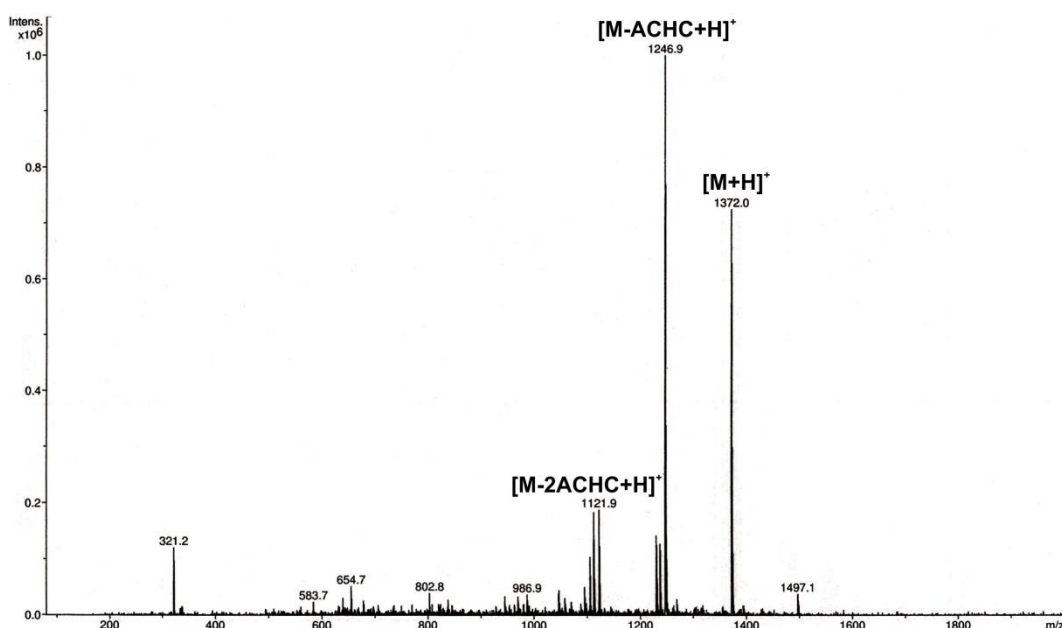
**Abb. 4-7** ESI-Massenspektrum des Roh-β-Peptids **66** aus Synthese 5 mit Zusatz von DMSO im Lösemittel.

**Tab. 4-6** Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh-β-Peptids **66** aus Synthese 5 (positiver Modus).

Masse gem. [Da]	Masse ber. [Da]	Fragment
163.3	-	nicht identifiziert
552.6	-	nicht identifiziert
677.7	-	nicht identifiziert
804.7	-	nicht identifiziert
883.8	-	nicht identifiziert
935.7	-	nicht identifiziert
1008.8	-	nicht identifiziert
1168.0	1168.61	$[M-ACHC-\beta^3hY+H]^+$
1220.0	1220.65	$[M-2ACHC+H]^+$
1293.1	1293.78	$[M-\beta^3hY+H]^+$
1345.1	1345.82	$[M-ACHC+H]^+$
1470.1	1470.99	$[M+H]^+$
1723.2	-	nicht identifiziert
1855.1	-	nicht identifiziert

Eine präparative, chromatographische Trennung des jeweiligen Produktgemischs mittels HPLC blieb unwirksam, weil die β-Peptide trotz der Deletionen von β-Aminosäuren ein viel zu ähnliches Retentionsverhalten auf den verwendeten RP-Säulen aufwiesen. Ein Reinstoff mit nur einem Massenpeak konnte nicht isoliert werden. Dementsprechend lieferten gelöste Proben der β-Peptidgemische abermals keine LLC-Phasen, mit denen NMR-Versuche bezüglich anisotropen Verhaltens hätten gemacht werden können.

Schließlich wurde das  $\beta$ -Peptid **66** in Kooperation mit Y. MOSKALENKO mittels manueller Festphasenpeptidsynthese hergestellt. Dabei dauerte ein Kupplungszyklus jeweils 2 Stunden und wurde für jede Aminosäure wiederholt. Alle Reagenzien sind im 5-fachen Überschuss bezüglich der Harzbeladung eingesetzt worden. Eine finale Acylierung des *N*-Terminus mit Hexansäureanhydrid ist nicht durchgeführt worden, sodass sich die erwartete Masse von 1469.98 auf 1371.87 Da reduzierte. Das abgespaltene  $\beta$ -Peptidgemisch wies drei große Hauptfraktionen auf, die im MS-ESI-Spektrum nachgewiesen (vgl. Abb. 4-8) und auf der HPLC gut voneinander getrennt werden konnten. Daraufhin ist auch das ursprüngliche  $\beta$ -Peptid **60** hergestellt worden, mit dem die Ergebnisse von THIELE ET AL.<sup>[14]</sup> reproduziert worden sind.



**Abb. 4-8** ESI-Massenspektrum des manuell hergestellten Roh- $\beta$ -Peptids **66** ohne Hexansäurerest am *N*-Terminus.

**Tab. 4-7** Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids **66** aus manueller Synthese (positiver Modus).

Masse gem. [Da]	Masse ber. [Da]	Fragment
321.2	-	nicht identifiziert
583.7	-	nicht identifiziert
654.7	-	nicht identifiziert
802.8	-	nicht identifiziert
986.9	-	nicht identifiziert
1121.9	1122.5	$[M-2ACHC+H]^+$
1246.9	1247.67	$[M-ACHC+H]^+$
1372.0	1371.84	$[M+H]^+$
1497.1	-	nicht identifiziert

---

Eine Laborsynthese der strukturgebenden  $\beta$ -Aminosäure **59** (ACHC) ist trotz bekannter Literaturvorschriften<sup>[291, 303]</sup> wegen sehr geringem Umsatz als zu verlustreich eingestuft worden, während kommerzielle Anbieter davon keine weitere Mengen liefern konnten. Die Synthese von  $\beta$ -Peptiden, die auf ACHC basieren, scheint allgemein schwierig zu sein, da die manuelle Festphasenpeptidsynthese des Peptids **66** erst nach mehreren Versuchen unter maximal unökonomischen Bedingungen erreicht werden konnte.

#### 4.1.2. $\beta$ -Peptid 67: $\text{Ac}-[\beta^3\text{hK}]_7-\text{NH}_2$

Die folgende Synthese soll zeigen, dass es generell möglich ist,  $\beta$ -Peptide mithilfe eines automatisierten, mikrowellengestützten Peptidsynthesizers (CEM® Liberty) herzustellen, was gleichzeitig eine Grundlage bildet, diese Makromoleküle in größeren Mengen erhalten zu können. Viele Parameter müssen empirisch ermittelt werden, um das gewünschte Produkt mit einer guten Ausbeute und Reinheit zu bekommen. Zu den wichtigen, einflussnehmenden Faktoren zählen: Aktivierungsreagenzien für  $\beta$ -Aminosäuren, Lösemittel, SPPS-Harz-Matrix mit Linker, Scavenger-/Säuremischung zur Peptidabspaltung sowie die thermische Anregung der Reaktion.

Vorhergehende Untersuchungen haben ergeben, dass die aus der Peptidsynthese bekannten, optimalen Reaktionsbedingungen nicht direkt auf die Synthese von  $\beta$ -Peptiden übertragbar sind. Insbesondere die Aktivierung der  $\beta$ -Aminosäuren mit Hilfsreagenzien kann zu einem unerwünschten Reaktionsverlauf führen. Um das Prinzip der Durchführbarkeit zu erfüllen, wurde das sehr einfache, nicht literaturbekannte  $\beta$ -Peptid 67 in einem automatischen Peptidsynthesizer realisiert.

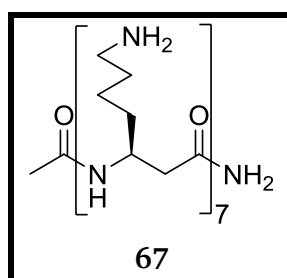
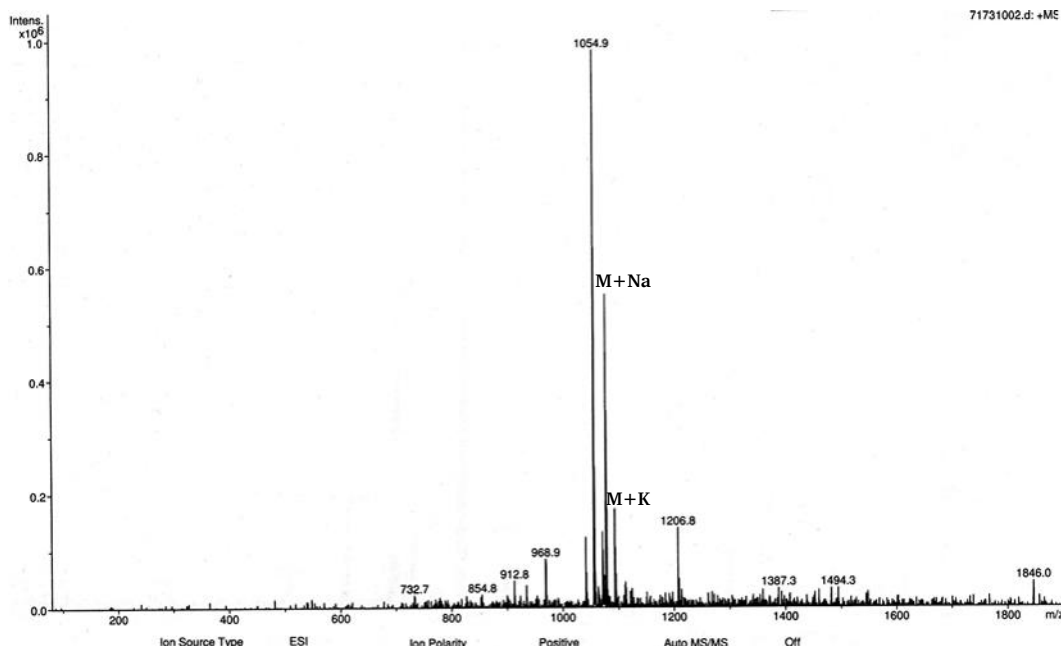


Abb. 4-9  $\beta$ -Peptid 67 aus  $\beta^3$ -Homolysin,  $M_w = 1054.48$  Da.

Als SPPS-Matrix wurde das Tentagel Rink AM-Harz mit einer Grundbeladung von  $0.24 \text{ mmol/g}_{\text{Harz}}$  genutzt, da es ein sehr gutes Quellverhalten in organischen Lösemitteln aufweist und gegenüber thermischer Anregung robust ist. Die Aktivierung der  $\beta$ -Aminosäure wurde standardmäßig mit einer HBTU/HOBT-Lösung durchgeführt. Die Entfernung der *N*-terminalen Fmoc-Schutzgruppe erfolgte mittels Piperidin in DMF. Die Synthese wurde mittels eines Mikrowellenreaktors thermisch unterstützt. Die finale Sequenz wurde mit Essigsäureanhydrid unter HOBT-Unterstützung acyliert und mit einer TFA-Lösung abgespalten.

Das Produkt wies eine ölige Konsistenz auf. Daher wurde es in VE-Wasser aufgenommen und lyophilisiert. Unter Vakuum hatte das erhaltene  $\beta$ -Peptid eine weiße, fluffige Form, die bei Kontakt mit normal-feuchter Laborluft sofort wieder ölig wurde. Erst die Lagerung unter trockenem Argon führte dazu, dass das Peptid seine pulverförmige Form weiterhin beibehält. Aus dieser Beobachtung folgt, dass das  $\beta$ -Peptid 67 stark hygroskopisch ist.



**Abb. 4-10** ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids **67**.

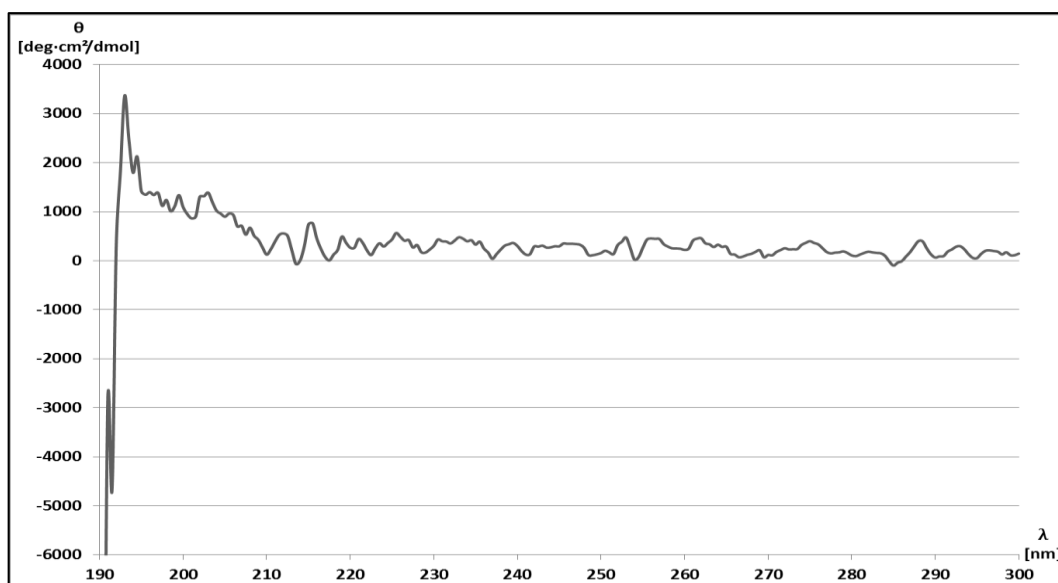
**Tab. 4-8** Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids **67**.

Masse gem. [Da]	Masse ber. [Da]	Fragment
732.7	-	nicht identifiziert
854.8	-	nicht identifiziert
912.8	-	nicht identifiziert
968.9	-	nicht identifiziert
1054.9	1055.48	$[M+H]^+$
1076.8	1077.38	$[M+Na]^+$
1093.1	1093.58	$[M+K]^+$
1206.8	1206.68	$[M+\beta^3\text{hK}+H]^+$
1387.3	-	nicht identifiziert
1494.3	-	nicht identifiziert
1846.0	-	nicht identifiziert

Das MS-ESI Spektrum des erhaltenen Produkts **67** (vgl. **Abb. 4-10**) zeigte die gesuchte Masse als Basispeak an, während die nachfolgenden intensiven Signale dem  $[M+Na]^+$ - sowie dem  $[M+K]^+$ -Peak zugeordnet werden konnten. Aufgrund der im Massenspektrum beobachteten hohen Reinheit des  $\beta$ -Peptids **67** wurde auf eine präparative Aufreinigung mittels RP-HPLC verzichtet.

Das  $\beta$ -Peptid **67** bildete weder in wässrigen, alkoholischen, noch organischen Lösemitteln eine LLC-Phase aus. Damit ist es als Orientierungsmedium für RDC-Messungen ungeeignet. Um die Sekundärstruktur und mögliche Selbstassemblierung dieses Moleküls zu untersuchen, wurde ein CD-Spektrum in MeOH aufgenommen.





**Abb. 4-11** CD-Spektrum des Roh- $\beta$ -Peptids **67** in MeOH,  $c = 0.138 \text{ mg/mL} = 0.131 \text{ mmol/L}$ .

Das schwache Maximum bei 193 nm im CD-Spektrum des  $\beta$ -Peptids **67** (vgl. **Abb. 4-11**) suggerierte zwar die Existenz einer helikalen Überstruktur ( $\alpha$ -Helix), unterschied sich aber im mittleren UV-Bereich deutlich von den Veröffentlichungen aus der Arbeitsgruppe SEEBACH.<sup>[10, 11, 24, 123, 304]</sup> Folglich konnte dem untersuchten Makromolekül keine bekannte Sekundärstruktur zugewiesen werden. Es ist denkbar, dass das TFA-Anion, das im positiven Modus des MS-ESI Massenspektrums nicht sichtbar ist, die Selbstassemblierung in Lösung behindert haben könnte.

Die erfolgreiche Synthese eines sauberen Produkts beweist, dass die automatisierte Herstellung von  $\beta$ -Peptiden im größeren Maßstab mittels SPPS möglich ist. Es ist jedoch sehr wahrscheinlich, dass das erhaltene Makromolekül mithilfe der Dialyse von den umgebenden Ionen, die bei der Abspaltung des  $\beta$ -Peptids vom Kunststoffharz entstanden sind, befreit werden muss, ehe es eine Überstruktur im geeigneten Lösemittel bilden kann.

#### 4.1.3. $\beta$ -Peptid 68: $\text{H}-[\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})-\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})-\beta^3\text{hK}]_4-\text{OH}$

Veröffentlichungen aus der Arbeitsgruppe SEEBACH motivieren,  $\beta$ -Peptide herzustellen, die nur aus den Homologa der natürlichen  $\alpha$ -Aminosäuren bestehen, weil bei ihnen auch ohne das rigide Strukturmotiv von ACHC oder ähnlichen, konformationell eingeschränkten Derivaten eine Selbstassemblierung mittels CD-Spektroskopie nachgewiesen worden ist. Es wird erwartet, dass die Lösungen dieser  $\beta$ -Peptide LLC-Phasen ausbilden, die als Orientierungsmedien verwendet werden können. Darüber hinaus sind die für die Synthese benötigten  $\beta$ -Aminosäuren gut im Labor herstellbar, sodass die Problematik der ACHC-Aminosäure umgangen wird.

Ausgehend vom  $\beta$ -Peptid 66 wurde die darin enthaltene, rigide  $\beta$ -Aminosäure ACHC durch die benzylierte  $\beta$ -Homoglutaminsäure ersetzt, sodass das  $\beta$ -Peptid 68 (vgl. Abb. 4-12) vollständig aus Homologa der natürlichen  $\alpha$ -Aminosäuren Lysin sowie Glutaminsäure zusammengesetzt ist. Die Benzyl-Schutzgruppe am  $\varepsilon$ -Carbonyl-Kohlenstoff der Glutaminsäure wurde nach der Peptidsynthese nicht entfernt und soll die Löslichkeit des Peptids in organischen Lösemitteln begünstigen. Darüber hinaus soll das  $\pi$ - $\pi$ -Stacking der aromatischen Seitenketten die Bildung einer stabilen Sekundärstruktur ähnlich wie beim Homopolypeptid Poly- $\gamma$ -benzyl-L-glutamat (PBLG) fördern. Das  $\beta$ -Peptid 68 ist nicht literaturbekannt.

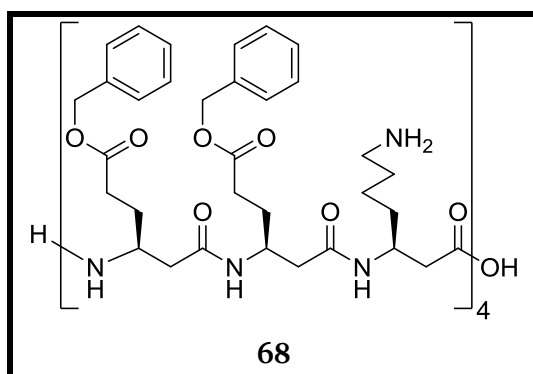
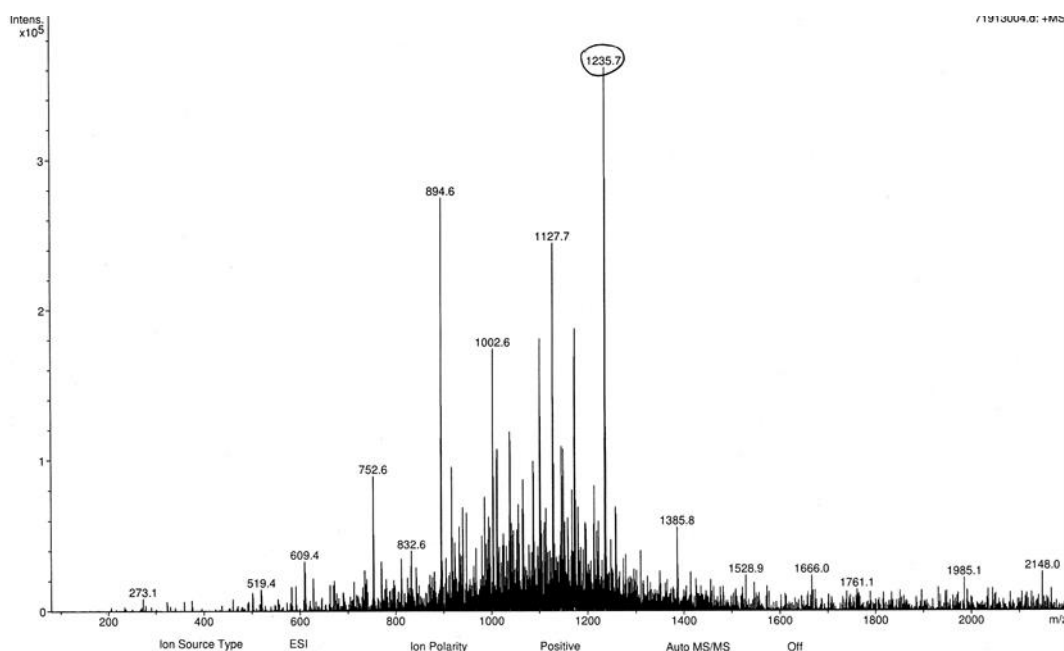


Abb. 4-12  $\beta$ -Peptid 68 aus  $\beta^3$ -Homoaminoinsäuren,  $M_w = 2452.92$  Da.

Für die automatisierte, mikrowellengestützte Synthese des  $\beta$ -Peptids 68 wurde ein 2-Cl-Trityl-Harz (2CTC-Harz) eingesetzt, das zuvor manuell mit Fmoc-geschütztem  $\beta^3$ -Homolysin vorbeladen worden ist. Zunächst wurde die bereits etablierte Standardmethode für die Peptidsynthese mit den entsprechenden Äquivalenten an Reagenzien angewandt. Als Aktivator diente eine HBTU/HOBT-Lösung in DMF, während als Base DIPEA in NMP verwendet worden ist. Die N-terminale Fmoc-Schutzgruppe wurde mit einer Piperidinlösung entfernt, während die Seitenkette des  $\beta^3$ -Homolysins bei der finalen Abspaltung des Peptids vom Harz mit TFA von der Boc-Funktionalität befreit worden ist. Abweichend vom Standardverfahren wurde ein Heizprogramm an der Mikrowelle am Peptidsynthesizer eingestellt, das die Energie mit großer Leistung in kurzen Pulsen einstrahlt. Damit wurden die an der Reaktion teilnehmenden Moleküle gezielt thermisch auf 50° C angeregt, während die Kunststoffmatrix hingegen geschont wurde.

Die automatisierte Synthese wurde nach der Kupplung der sechsten  $\beta$ -Aminosäure in der Peptidsequenz abgebrochen, da das Signal des abgespaltenen Dibenzofulven-Adduktes im Abfallstrom zu schwach für die Detektion mit dem UV-Monitor gewesen ist und in Folge dessen unverhältnismäßig oft der Fmoc-Abspaltungszyklus wiederholt worden ist. Außerdem gab es wie bei der Herstellung des ACHC- $\beta$ -Peptids **66** Probleme mit ausfallenden Reagenzien, die die feinen Ventile verstopften und eine gezielte Dosierung erschwerten.

Das Produkt, das aufgrund seiner verkürzten Sequenz die Bezeichnung  $\beta$ -Peptid **68a** erhielt, wurde vom Harz abgespalten, um Informationen über die Effizienz der Kupplungen von  $\beta$ -Aminosäuren zu bekommen.



**Abb. 4-13** ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids **68a**.

**Tab. 4-9** Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids **68a**.

Masse gem. [Da]	Masse ber. [Da]	Fragment
273.1	-	nicht identifiziert
519.4	518.68	<b>68c</b> (vgl. Abb. 4-15)
609.4	-	nicht identifiziert
752.6	751.94	$[M-\beta^3K-\beta^3hE(Bzl)+H]^+$
832.6	-	nicht identifiziert
894.6	894.15	<b>68d</b> (vgl. Abb. 4-15)
1002.6	1003.22	$[M-\beta^3hE(Bzl)+H]^+$
1127.7	1127.41	<b>68e</b> (vgl. Abb. 4-15)
1235.7	1236.28	$[M+H]^+$
1385.8	-	nicht identifiziert
1528.9	-	nicht identifiziert
1666.0	-	nicht identifiziert
1761.1	-	nicht identifiziert
1985.1	-	nicht identifiziert
2148.0	-	nicht identifiziert

Das MS-ESI-Spektrum des  $\beta$ -Peptids **68a** (vgl. Abb. 4-13) zeigte die Masse des in der Sequenz verkürzten Hauptprodukts als Basispeak an. Allerdings lag es nicht rein vor, denn zahlreiche andere intensive Peaks wiesen auf die Existenz von Nebenprodukten hin. Dabei handelte es sich um Peptidsequenzen mit Deletionen von Aminosäuren, mit nicht-quantitativ entschützten funktionellen Gruppen, oder Molekülen, die aus einer Oxazolin/Oxazinon-Umlagerung entstanden sind.

Da der Reaktionsverlauf nicht zufriedenstellend war und zu einer geringen Ausbeute führte, wurde die Synthese manuell wiederholt. Zusätzlich wurde als Kupplungsreagenz statt HBTU/HOBT eine *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorophosphat (HATU)/HOAT-Lösung mit gleicher Konzentration in DMF verwendet, die bei der Peptidsynthese für eine höhere Kupplungseffizienz bei gleichzeitiger Unterdrückung von Nebenreaktionen bekannt ist. Auf thermische Anregung durch den Mikrowellenreaktor musste bei dieser SPPS-Synthese in Kunststoffspritzen verzichtet werden.

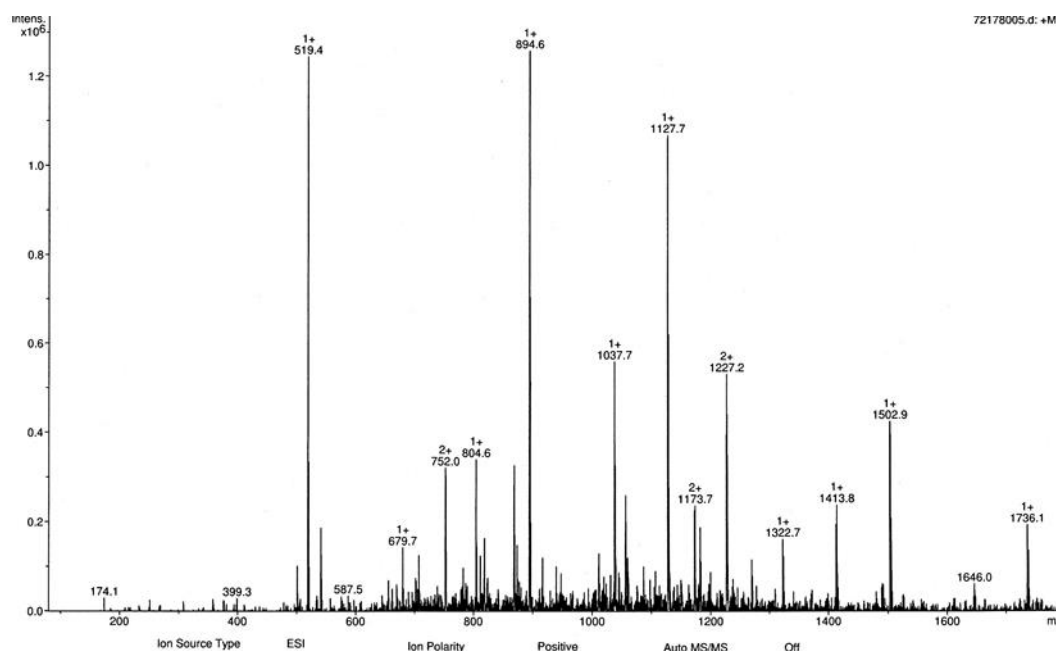


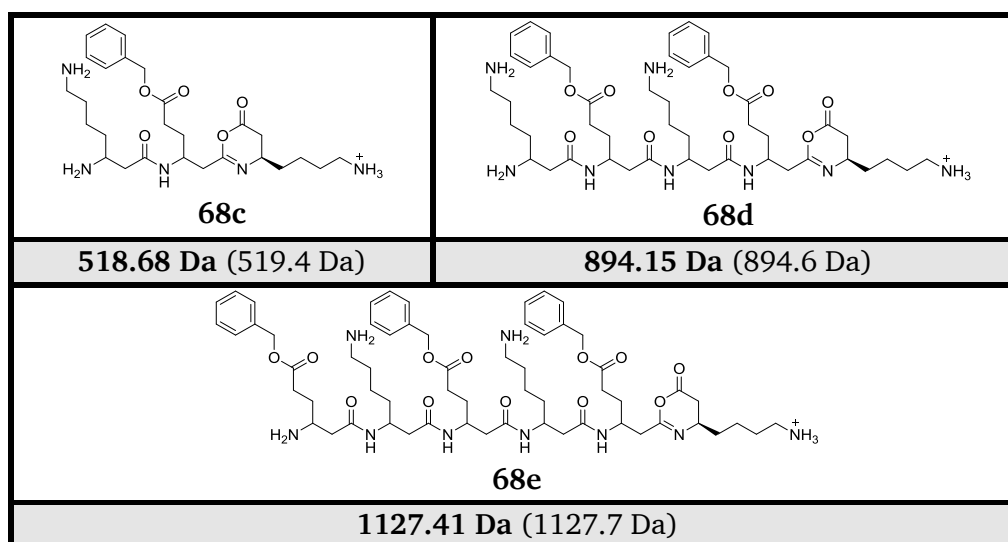
Abb. 4-14 ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids **68b**, Molekülpeak  $[M+2H]^{2+} = 2 \cdot 1227.2 \text{ Da} = 2454.2 \text{ Da}$ .

Tab. 4-10 Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids **68b**.

Masse gem. [Da]	Masse ber. [Da]	Fragment
174.1	-	nicht identifiziert
399.3	-	nicht identifiziert
519.4	518.68	<b>68c</b> (vgl. Abb. 4-15)
587.5	-	nicht identifiziert
679.7	678.88	$[M-\beta^3\text{hK}-7\beta^3\text{hE}(\text{Bzl}) + \text{H}]^+$
752.0	751.94	$[M-2\beta^3\text{hK}-4\beta^3\text{hE}(\text{Bzl}) + 2\text{H}]^{2+}$
804.6	-	nicht identifiziert
894.6	894.15	<b>68d</b> (vgl. Abb. 4-15)
1037.7	-	nicht identifiziert

Masse gem. [Da]	Masse ber. [Da]	Fragment
1127.7	1127.41	<b>68e</b> (vgl. Abb. 4-15)
1173.7	-	nicht identifiziert
1227.2	1227.46	$[M + 2H]^{2+}$
1322.7	-	nicht identifiziert
1413.8	-	nicht identifiziert
1502.9	-	nicht identifiziert
1646.0	-	nicht identifiziert
1736.1	-	nicht identifiziert

Das MS-ESI Massenspektrum (vgl. **Abb. 4-14**) des erhaltenen Rohprodukts **68b** unterschied sich deutlich vom bisherigen Hexamer **68a**. Diese Tatsache konnte nicht allein darauf zurückgeführt werden, dass alle Syntheszyklen des  $\beta$ -Peptids **68** ausgeführt worden sind. Die Massenverteilung im selben Massenbereich, in dem das verkürzte Produkt gemessen wurde, war anders und die Peaks waren gut voneinander getrennt. Das Hauptprodukt ist als ein doppelt positiv geladenes Ion identifiziert worden. Besonders auffällig waren im Massenspektrum jedoch die intensiven Nebenproduktpeaks, die bei der verkürzten Synthese von **68a** nur als untergeordnete Signale erkennbar waren. Damit war ersichtlich, dass die Benutzung der HATU/HOAT-Lösung als Aktivierungsreagenz für  $\beta$ -Aminosäuren die Nebenproduktbildung stark bevorzugt hatte, anstatt sie zu unterdrücken. Wird von einer Oxazinon-Bildung als dem überwiegenden Mechanismus ausgegangen, der mit der Hauptproduktbildung konkurriert, so sind folgende, nicht literaturbekannte Moleküle den intensiven Nebenproduktpeaks zuzuordnen:



**Abb. 4-15** Vermutete Nebenprodukte bei der Synthese des  $\beta$ -Peptids **68**; berechnete (gemessene) Molmasse.

---

Die berechnete Molmasse der vermuteten Nebenprodukte **68 c-e** (vgl. Abb. 4-15) unterscheidet sich nur sehr gering von den intensiven Massenpeaks im MS-ESI Spektrum des Rohproduktgemischs. Für eine eindeutige Identifizierung ist eine chromatographische Aufreinigung der Moleküle sowie anschließende Untersuchung mittels NMR nötig. Falls die chemische Struktur zutrifft, müsste geklärt werden, welcher Mechanismus zu der alternierenden Kupplung von  $\beta$ -Lysin sowie  $\beta$ -Glutaminsäure(Bzl) führt, obwohl die letztgenannte Aminosäure vermeintlich doppelt so häufig mit dem *N*-Terminus des Peptids sequenziell umgesetzt worden ist. Es wird ein Zusammenhang zwischen der Oxazolon-/Oxazinon-Bildung (vgl. Sch. 2-12) sowie dem dirigierenden Effekt des Pyridinium-Stickstoffs des Kupplungsreagenzes HATU vermutet. Diese Fragestellung wurde jedoch nicht weiter verfolgt, weil die Entwicklung eines Orientierungsmediums Vorrang hatte.

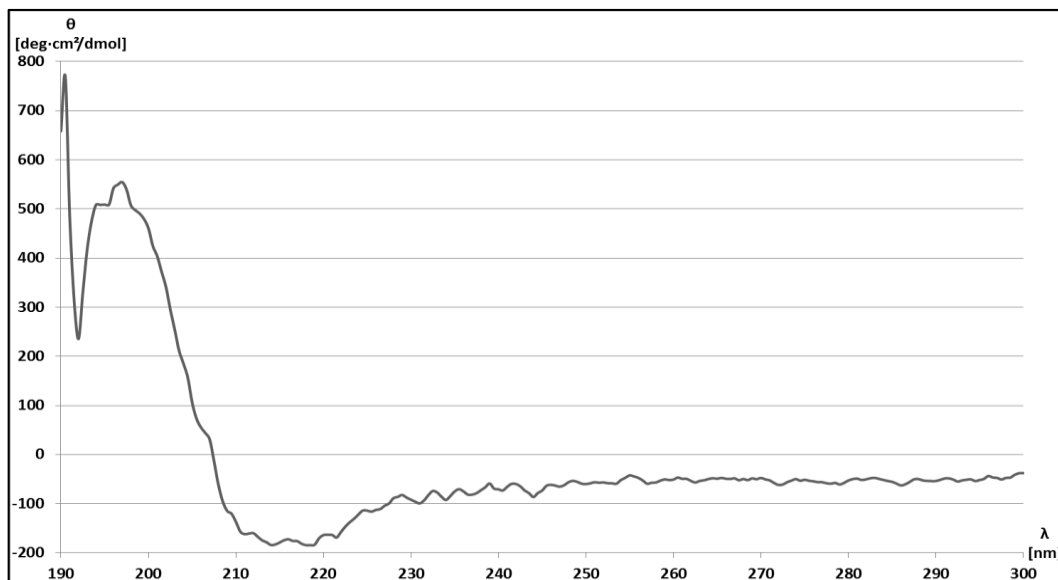
Da die Existenz des Peaks mit der gesuchten Molmasse im zugehörigen MS-ESI Spektrum nachgewiesen worden ist, wurde das Rohprodukt chromatographisch mittels RP-HPLC in seine Komponenten aufgetrennt. Die Zielsetzung dabei war die Isolierung des Hauptprodukts mit einer möglichst hohen Reinheit.

Die RP-HPLC des  $\beta$ -Peptids **68b** stellte eine große Herausforderung dar, denn das Rohproduktgemisch war schlecht in  $\text{H}_2\text{O}$  und Acetonitril löslich. Erst die Verwendung von Essigsäure zum Lösen der präparativen Probe machte ein Scale-Up der Trennung möglich. Die tatsächliche Reinheit der lyophilisierten Einzelpeaks wurde zuerst mittels analytischer RP-HPLC und anschließend mit MS-ESI überprüft.

Die HPLC-Reinheit der Fraktionen von Interesse bezogen auf den größten Peak im Chromatogramm lag bei 42-45%, wobei die übrigen Signale aufgrund der möglichen Aggregation des  $\beta$ -Peptids und dem daraus resultierenden, veränderten Retentionsverhalten ebenfalls zum gesuchten Produkt gehören könnten. Tatsächlich zeigte das jeweilige Massenspektrum hauptsächlich einen Basispeak und nur wenige andere, schwache Signale. Allerdings wies keine der gesammelten Fraktionen die gesuchte Masse des  $\beta$ -Peptids **68** auf. Lediglich die vermuteten Nebenprodukte **68 c-e** wurden im ESI-Massenspektrum nachgewiesen. Diese Beobachtung kann damit erklärt werden, dass die vermuteten Oxazinon-Produkte überwiegend im Rohproduktgemisch vorhanden waren und auf der im UV-Detektor der HPLC-Anlage eingestellten Wellenlänge am stärksten absorbierten. Sie wurden als intensive Signale im Chromatogramm angezeigt sowie als Fraktionen abgetrennt.

Da die vermeintlichen  $\beta$ -Peptid-Oxazinone **68 c-e** laut den entsprechenden Massenspektren sauber erhalten worden sind, wurde versucht, mithilfe dieser Moleküle eine LLC-Phase für die NMR anzusetzen. Die Löslichkeit der isolierten Fraktionen in den üblichen organischen Lösemitteln wie  $\text{CDCl}_3$  war sehr schlecht. Tatsächlich verhielten sich die  $\beta$ -Peptide sogar hygroskopisch und wandelten sich bei Kontakt mit normaler, feuchter Luft im Labor in eine ölige Form um. Dementsprechend waren sie sehr gut wasserlöslich. Allerdings konnte in diesen Medien selbst bei sehr hohen Peptidkonzentrationen keine typische Doppelbrechung eines Flüssigkristalls festgestellt werden. Ebenso blieben Untersuchungen mit  $^2\text{H}$ -NMR bezüglich einer Quadrupolaufspaltung der Lösemittelsignale in einer anisotropen Umgebung erfolglos. Die Verwendung aprotischer, polarer Lösemittel wie den deuterierten Derivaten von DMSO oder DMF führte ebenfalls zu keiner LLC-Phase.

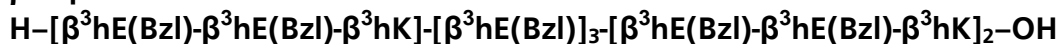
Die Synthesen des  $\beta$ -Peptids **68** wurden auf anderen Harzen, mit verschiedenen Aktivator-Lösungen sowie mit unterschiedlichen Acylierungen (Essigsäure-, Hexansäureanhydrid) durchgeführt, ohne bessere Ergebnisse als die zuvor berichteten zu erhalten.



**Abb. 4-16** CD-Spektrum der  $\beta$ -Peptidmischung **68b** in TFE,  $c = 0.26 \text{ mg/mL} = 0.106 \text{ mmol/L}$ .

Die  $\beta$ -Peptidmischung **68b** (Rohprodukt) wurde mittels CD-Spektroskopie in MeOH sowie TFE untersucht (vgl. **Abb. 4-16**), um eine Überstruktur nachzuweisen. Das beste Spektrum mit einer deutlichen Absorption im fernen UV-Bereich wurde unter der Verwendung von TFE als Lösemittel wegen der besseren Transparenz im Messbereich erhalten. Das Maximum bei 197 nm sowie das Minimum bei 214 nm suggerierten die Existenz einer Überstruktur. Die von SEEBACH veröffentlichte Ergebnisse deuten darauf hin, dass es sich um eine (*M*)-3<sub>14</sub>-Helix handeln könnte.<sup>[10, 11, 24, 123, 304]</sup> Die Literatur beschreibt, dass die beobachtete Struktur über einen weiten Konzentrationsbereich erhalten bleibt, was auf die intramolekulare Wasserstoffbrückenbindung in einer Helix zurückzuführen ist. Im Falle einer  $\beta$ -Faltblattstruktur würde eine geringe Verdünnung der Probe, eine große Änderung des beobachteten Spektrums bewirken, da die auf intermolekularen H-Brücken basierende Überstruktur gebrochen werden würde. Tatsächlich bewirkte die Verdünnung der Probe lediglich eine Abnahme der Gesamtintensität, während alle Extremwerte bei denselben Wellenlängen geblieben sind.

#### 4.1.4. $\beta$ -Peptid 69:



Um die Löslichkeit des  $\beta$ -Peptids **68** und seiner möglichen, als Orientierungsmedium brauchbaren Nebenprodukte in organischen Lösemitteln zu erhöhen, wurde in der Sequenz eine ionisierbare  $\beta$ -Aminosäure,  $\beta$ -Homolysin, durch die benzylierte  $\beta$ -Homoglutaminsäure ersetzt. Das modifizierte  $\beta$ -Peptid **69** sollte mehr aliphatische sowie aromatische Interaktionen aufweisen. Das  $\beta$ -Peptid **69** ist nicht literaturbekannt.

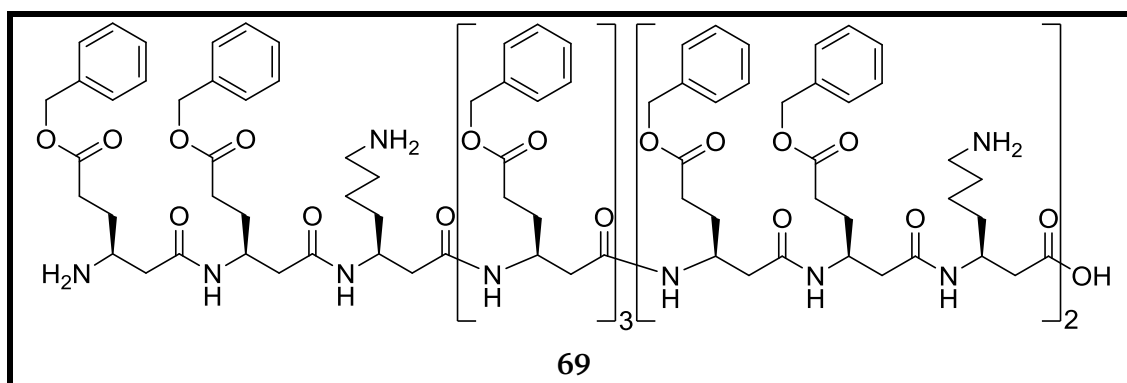


Abb. 4-17  $\beta$ -Peptid **69** aus  $\beta^3$ -Homoaminosäuren mit einer benzylierten Seitenkette mehr als **68**,  $M_w = 2544.02$  Da.

Die Synthese des erwünschten Produkts **69** wurde unter denselben Bedingungen und mit den gleichen Reagenzien (HATU/HOAT-Aktivierung) durchgeführt wie die zuvor beschriebene Synthese des  $\beta$ -Peptids **68**. Der einzige Unterschied bestand darin, dass an der entsprechenden Stelle in der Peptidsequenz eine  $\beta$ -Homolysinaminosäure durch die benzylierte  $\beta$ -Homoglutaminsäure substituiert worden ist.

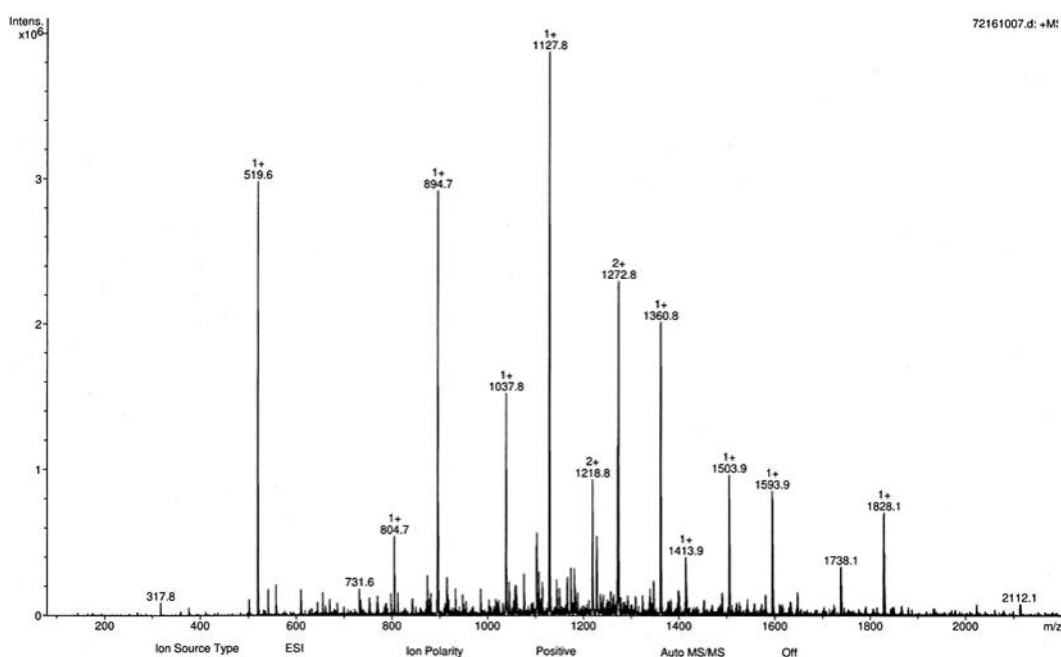


Abb. 4-18 ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids **69**, Molekülpeak  $[M+2H]^{2+} = 2 \cdot 1272.8$  Da = 2545.6 Da.



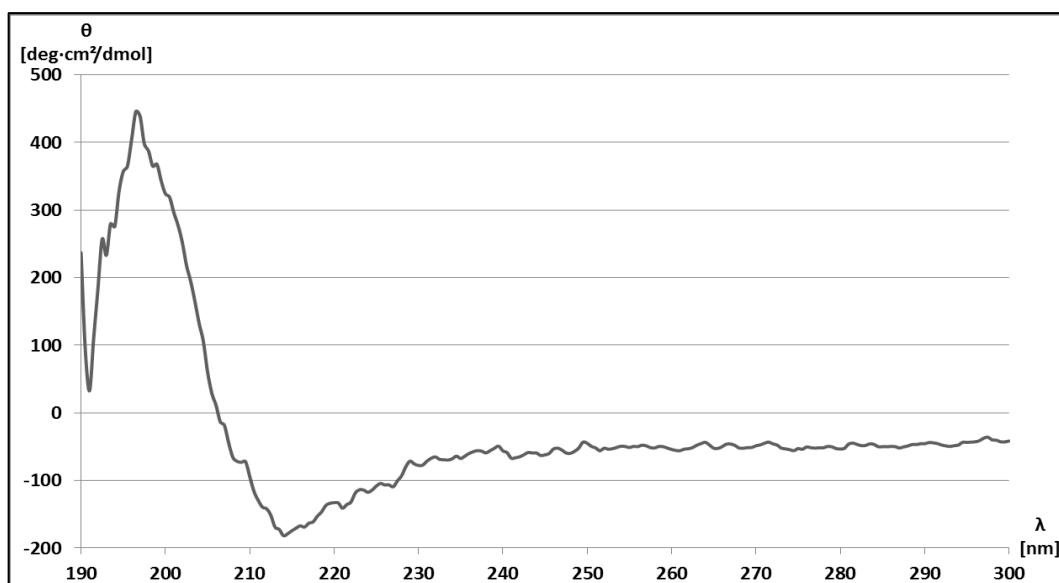
Tab. 4-11 Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids **69**.

Masse gem. [Da]	Masse ber. [Da]	Fragment
317.8	-	nicht identifiziert
519.6	518.68	<b>68c</b> (vgl. Abb. 4-15)
731.6	-	nicht identifiziert
804.7	-	nicht identifiziert
894.7	894.15	<b>68d</b> (vgl. Abb. 4-15)
1037.8	-	nicht identifiziert
1127.8	1127.41	<b>68e</b> (vgl. Abb. 4-15)
1218.8	1218.48	$[M-\beta^3\text{hK}-5\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})+2\text{H}]^{2+}$
1272.8	1273.01	$[M+2\text{H}]^{2+}$
1360.8	-	nicht identifiziert
1413.9	-	nicht identifiziert
1503.9	-	nicht identifiziert
1593.9	-	nicht identifiziert
1828.1	-	nicht identifiziert
2112.1	-	nicht identifiziert

Das MS-ESI Massenspektrum des  $\beta$ -Peptids **69** (vgl. Abb. 4-18) wies eine große Ähnlichkeit zum Spektrum des Peptids **68b** (vgl. Abb. 4-17) auf. Die vermuteten Nebenprodukte **68 c-e** entstanden jedoch auch bei dieser manuellen Synthese in großer Mengen, obwohl die angestrebte Peptidsequenz **69** sich in einem Kupplungszyklus von **68** unterschied. Eine präparative Trennung des Rohproduktgemischs hätte folglich zu denselben Ergebnissen geführt, die zuvor berichtet worden sind, sodass darauf verzichtet werden konnte.

Es ist davon abzuraten, eine HATU/HOAT-Lösung als Kupplungsreagenz für  $\beta$ -Aminosäuren zu verwenden. Auch wenn das erhaltene Rohprodukt aus der SPPS sauberer erschien als aus Synthesen, in denen eine HBTU/HOBT-Aktivierung durchgeführt worden ist, stand die Bildung der unerwünschten Nebenprodukte deutlich im Vordergrund. Das angestrebte  $\beta$ -Peptid entstand nur in geringer Ausbeute und konnte nicht chromatographisch mittels RP-HPLC aufgereinigt werden.

Die Acylierung mittels Essigsäure- oder Hexansäureanhydrid zwecks guter Trennbarkeit sowie einer möglichen besseren Selbstassemblierung war unwirksam, da in den MS-ESI Massenspektren keine entsprechenden Produkte gefunden worden sind. Die schlechte Löslichkeit der  $\beta$ -Aminosäuren stellte nach wie vor eine Herausforderung an die automatisierte Peptidsynthese dar, der chemisch, über den Einsatz eines mehr unpolaren Lösemittels als DMF, begegnet werden müsste. Andernfalls kann der Peptidsynthesizer nicht sinnvoll genutzt werden, wenn bei jedem Kupplungszyklus während des Zudosierens der Reagenzlösungen ein ausgefallener Niederschlag wichtige Leitungen sowie Ventile blockiert.



**Abb. 4-19** CD-Spektrum des  $\beta$ -Peptids **69** in TFE,  $c = 0.31 \text{ mg/mL} = 0.122 \text{ mmol/L}$ .

Das CD-Spektrum des  $\beta$ -Peptids **69** in TFE (vgl. **Abb. 4-19**) wies mit einem Maximum bei 197 nm sowie einem Minimum bei 214 nm praktisch dieselbe Struktur auf wie das Produkt **68b**. Daraus ist ersichtlich, dass die Sekundärstruktur dieser beiden Peptide in Lösung ähnlich sein muss. Zusammen mit denselben Massenpeaks wie beim Roh- $\beta$ -Peptid **68b** aus dem MS-ESI Spektrum (vgl. **Abb. 4-18**) besteht die begründete Annahme, dass es sich um Makromolekülmischungen mit nahezu identischer Zusammensetzung handelt.

#### 4.1.5. $\beta$ - $\gamma$ -Peptid 70: 6- $\beta^3$ hY-[Ada<sup>Gly</sup>-Ada<sup>Gly</sup>- $\beta^3$ hK]<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub>

Untersuchungen der  $\beta$ -Peptide **66-69** haben gezeigt, dass ein rigides strukturgebendes Motiv, wie es beispielsweise die  $\beta$ -Aminosäure ACHC darstellt, essenziell für Peptide ist, die als Mesogene eine lyotrope flüssigkristalline Phase ausbilden sollen. Die  $\gamma$ -Aminosäure 3-Aminoadamantan-1-carbonsäure (Ada<sup>Gly</sup>) **71** (vgl. Abb. 4-21) erfüllt die Bedingung einer konformationell eingeschränkten Struktur und müsste in  $\beta$ -Peptiden die Stabilität der resultierenden Mesogenstruktur fördern. Da das aliphatische Adamantan-Molekül selbst sehr gut in organischen Lösemitteln löslich ist, kann das Makromolekül, das diese Einheit in der Überzahl enthält, sich ebenfalls gut darin lösen. Ausgehend vom  $\beta$ -Peptid **66** wurde die  $\beta$ -Aminosäure ACHC durch die  $\gamma$ -Aminosäure Ada<sup>Gly</sup> **71** (vgl. Abb. 4-21) ersetzt, sodass in Folge das  $\beta$ - $\gamma$ -Peptid **70** entstanden ist (vgl. Abb. 4-20). Es ist nicht in der Literatur bekannt.

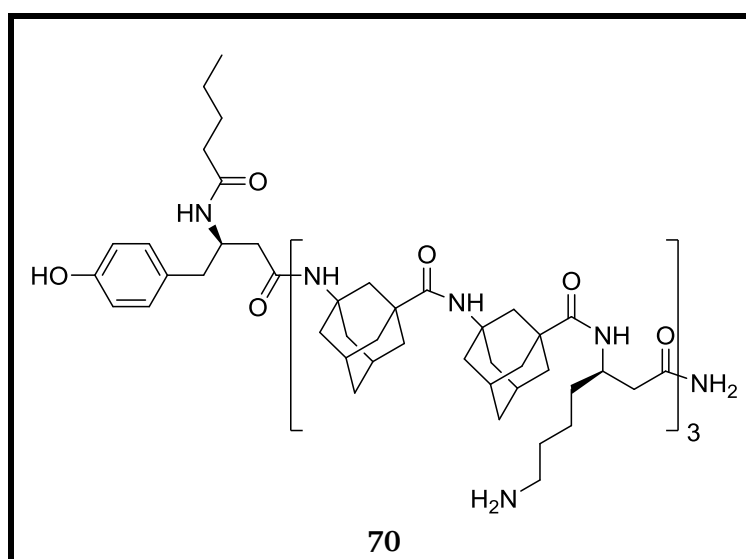


Abb. 4-20  $\beta$ - $\gamma$ -Peptid **70** mit der  $\gamma$ -Aminosäure Ada<sup>Gly</sup> **71** als strukturgebende Einheit,  $M_w = 1782.47$  Da.

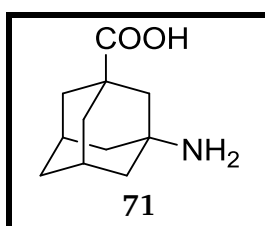
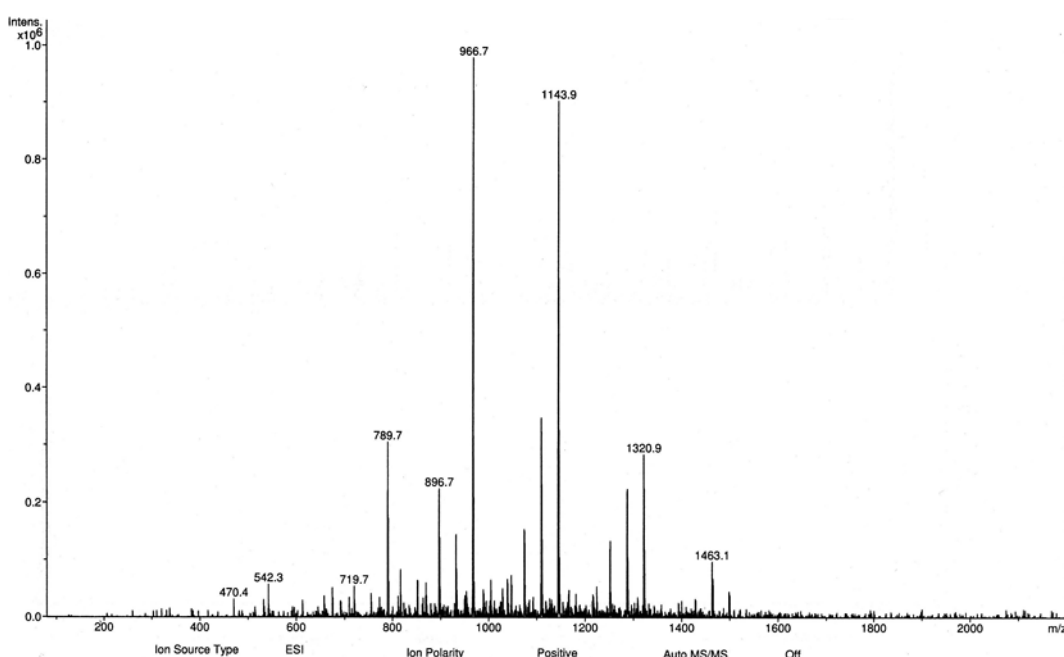


Abb. 4-21  $\gamma$ -Aminosäure **71** (1*r*, 3*s*, 5*R*, 7*S*)-3-Aminoadamantan-1-carbonsäure (Ada<sup>Gly</sup>), Herkunft siehe Anhang.

Das  $\beta$ - $\gamma$ -Peptid **70** wurde auf Tentagel Rink AM-Harz mit einer Grundbeladung von 0.24 mmol/g<sub>Harz</sub> mittels SPPS in DMF hergestellt. Dabei wurde sowohl eine manuelle Synthese bei Raumtemperatur als auch eine automatisierte bei 90° C unter Mikrowellenanregung durchgeführt.

Die Aktivierung der  $\beta$ - oder  $\gamma$ -Aminosäuren erfolgte im Peptidsynthesizer standardmäßig mit einer HBTU/HOBT-Lösung, während in der Spritzensynthese per Hand eine HATU/HOAT-Lösung derselben Konzentration verwendet wurde. Die Entfernung der *N*-terminalen Fmoc-Schutzgruppe erfolgte mittels Piperidin in DMF. Die finale Sequenz wurde mit Hexansäureanhydrid acyliert und mit einer TFA-Lösung abgespalten.

Im Gegensatz zu ACHC **59** war die  $\gamma$ -Aminosäure **71** sehr gut in DMF löslich und verursachte keine Probleme mit den feinen Ventilen des Peptidsynthesizers. In beiden Synthesen wurde ein Peptid in guter Ausbeute (ca. 24 Prozent) erhalten, das sich in organischen Lösemitteln wie beispielsweise  $\text{CHCl}_3$  löste. Damit hat sich die These, dass eine aliphatische Aminosäure die Löslichkeit zu den typischen, organischen NMR-Lösemitteln vermitteln würde, bestätigt.



**Abb. 4-22** ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ - $\gamma$ -Peptids **70**.

**Tab. 4-12** Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ - $\gamma$ -Peptids **70**.

Masse gem. [Da]	Masse ber. [Da]	Fragment
470.4	471.54	$[\text{M}-6\text{Ada}^{\text{Gly}}-2\beta^3\text{hK}-6+\text{H}]^+$
542.3	-	nicht identifiziert
719.7	-	nicht identifiziert
789.7	790.13	$[\text{M}-3\text{Ada}^{\text{Gly}}-2\beta^3\text{hK}-\beta^3\text{hY}+\text{H}]^+$
896.7	897.3	$[\text{M}-4\text{Ada}^{\text{Gly}}-\beta^3\text{hY}+\text{H}]^+$
966.7	967.34	$[\text{M}-3\text{Ada}^{\text{Gly}}-\beta^3\text{hK}+\text{H}]^+$
1143.9	1144.59	$[\text{M}-2\text{Ada}^{\text{Gly}}-\beta^3\text{hK}+\text{H}]^+$
1320.9	1321.84	$[\text{M}-\text{Ada}^{\text{Gly}}-2\beta^3\text{hK}+\text{H}]^+$
1463.1	1464.05	$[\text{M}-\text{Ada}^{\text{Gly}}-\beta^3\text{hK}+\text{H}]^+$

Das MS-ESI-Spektrum (vgl. **Abb. 4-22**) zeigte, dass in beiden Synthesen – manuell und automatisiert – ein identisches Peptidgemisch entstanden ist, in dem allerdings der Massenpeak des gesuchten  $\beta$ - $\gamma$ -Peptids **70** fehlte. Es sind wie im Falle des  $\beta$ -Peptids **66** viele Nebenprodukte entstanden, die überwiegend auf Deletionen der rigiden Aminosäure Ada<sup>Gly</sup> **71** zurückzuführen sind. Die einzelnen Deletionsprodukte wurden mittels RP-HPLC abgetrennt und über MS-ESI-Spektrometrie identifiziert.

Da die einzelnen Peptidfraktionen sauber erhalten worden sind, konnten die reinen Substanzen in deuterierten, organischen Lösemitteln (CDCl<sub>3</sub>, DMSO-d<sub>6</sub>, MeOD-d<sub>4</sub>, Benzol-d<sub>6</sub>) gelöst und auf die Bildung einer LLC-Phase hin untersucht werden, ohne dass störende Effekte durch andere Oligomere zu befürchten waren. Im Konzentrationsbereich 2.5 bis 25% sowie über einen Zeitraum von drei Monaten bei Raumtemperatur hatte keine Probe eine flüssigkristalline Konsistenz mit doppelbrechenden Eigenschaften angenommen. Der Test erfolgte über die Betrachtung der angesetzten Proben zwischen Polarisationsfiltern.

**Tab. 4-13** Zugabe der Peptidfraktionen aus der Synthese des **70** zu CDCl<sub>3</sub>, D<sub>2</sub>O, DMSO-d<sub>6</sub>, MeOD-d<sub>4</sub>, Benzol-d<sub>6</sub> und Beobachtung der Doppelbrechung.

Konzentration [m%]	2.5	5.5	15.0	25.0	Lösemittel
LLC-Phase [ja/nein]	nein	nein	nein	nein	CDCl <sub>3</sub>
	nein	nein	nein	nein	D <sub>2</sub> O
	nein	nein	nein	nein	DMSO-d <sub>6</sub>
	nein	nein	nein	nein	MeOD-d <sub>4</sub>
	nein	nein	nein	nein	Benzol-d <sub>6</sub>

Es ist davon auszugehen, dass die verkürzten Derivate des  $\beta$ - $\gamma$ -Peptids **70** keine LLC-Phase ausbilden, die sie als Orientierungsmedien für die Messung von residualen dipolaren Kopplungen nutzbar macht. Obwohl die  $\gamma$ -Aminosäure **71** (Ada<sup>Gly</sup>) aufgrund ihrer Konstitution selbst eine sehr stabile Konformation besitzt, stabilisiert sie damit nicht die Sekundärstruktur des Peptids, in dem sie eingebaut ist. Der zusätzliche Abstand einer weiteren C-C-Bindung (ca. 154 pm) zwischen der Carboxyl- und Aminogruppe ändert stark die räumliche Ausrichtung des gesamten Makromoleküls, sodass es trotz des flexiblen  $\beta$ -Homolysins nicht dieselbe Helixform einnehmen kann wie das ACHC-basierte  $\beta$ -Peptid **66**. Es ist jedoch denkbar, dass mithilfe der literaturbekannten Atomabstände und Geometrien des Adamantyl-Moleküls sowie der  $\beta$ -Aminosäuren in Lösung ein Modell entwickelt werden kann, das die Vorhersage der Primärstruktur eines optimalen  $\beta$ - $\gamma$ -Peptides mit einer definierten Helix zulässt.<sup>[139]</sup>

Darüber hinaus muss final festgestellt werden, ob die bei der Peptidabspaltung vom SPPS-Harz entstandenen Ionen einen negativen Einfluss auf die Selbstassemblierung haben. Im Falle des  $\beta$ -Peptids **66** war bei dessen erfolgreichem Nachweis auf Tauglichkeit als Orientierungsmedium für die NMR laut Literatur sowie Wiederholung der Experimente im Labor das TFA-Anion vorhanden, und dieses hatte keinen nachweisbaren Effekt. Ebenso besteht die Möglichkeit, dass die Überstruktur des  $\beta$ - $\gamma$ -Peptids **70** durch die organischen Lösemittel destabilisiert wird, weil sich darin keine Wasserstoffbrückenbindungen ausbilden können.

---

Zusätzlich werden ionische Effekte wie zum Beispiel die Aneinanderreihung von Makrodipolen als ein Mechanismus der Selbstassemblierung in organischen Solventen benachteiligt.

Bisher wurde nur bei einem  $\beta$ -Peptid **66** mit rigiden  $\beta$ -Aminosäuren, die über ihre Konformation die Überstruktur in Lösung stabilisieren, eine Anwendbarkeit als LLC-Phase für die Messung von RDCs nachgewiesen. Untersuchungen von Oligomeren, die aus flexiblen  $\beta$ -Aminosäuren aufgebaut sind, deuten darauf hin, dass diese konformationelle Einschränkung der wichtigste tragende Effekt bei der Selbstassemblierung ist. Die *N*-terminale Acylierung mit einer langkettigen Carbonsäure sollte das Aspektverhältnis der Mesogene erhöhen und damit die Ausbildung einer Sekundärstruktur zusätzlich verstärken.

---

## 4.2. Charakterisierung ausgewählter $\beta$ -Strukturbildner

Die Herausforderungen bei der Synthese von  $\beta$ -Peptiden sowie den zugehörigen  $\beta$ -Aminosäuren – insbesondere ACHC – rückten die Peptide, die aus  $\alpha$ -Aminosäuren aufgebaut sind, wieder in den Vordergrund der Entwicklung peptidbasierter Orientierungsmedien für die NMR. Es gelten dabei dieselben Bedingungen wie zuvor beschrieben, dass die Makromoleküle von Interesse eine stabile Sekundärstruktur in Lösung ausbilden sollen, um schließlich eine LLC-Phase zu erzeugen.

Es gibt in der Literatur zahlreiche Beispiele von Polypeptiden, die die geforderten Bedingungen zu erfüllen scheinen. Allerdings sind die meisten Systeme auf eine Anwendung im wässrigen Milieu beschränkt. Daher werden zunächst Verbindungen gewählt, die eine besonders stabile Sekundärstruktur ausbilden können, um später durch Derivatisierung der Seitenketten oder dem *N*-Terminus am Ende die Löslichkeit in organischen Lösemitteln zu vermitteln. Idealerweise bleibt die starke Tendenz zur Selbstassemblierung in den modifizierten  $\alpha$ -Peptiden erhalten.

Auf den ersten Blick schien Polyprolin ein geeignetes Medium zu sein, denn eigene Untersuchungen einer Polyprolin Helix II (PPII) aus 70 Prolin-Aminosäuren mittels CD-Spektroskopie zeigten, dass sich in Lösung eine ausgeprägte Sekundärstruktur ausgebildet hat (Ergebnisse im Anhang). Die Überstruktur hat den Vorteil, dass sie nicht von Wasserstoffbrückenbindungen abhängt, sondern allein durch sterische Wechselwirkungen zustande kommt. Folglich müsste sie zu organischen Lösemitteln kompatibel sein. Jedoch wurde dieses Polypeptid nicht als Ausgangsmaterial für weitere Modifikationen ausgewählt, weil es in allen gängigen Lösemitteln schlecht löslich war. Eine Probenanalyse mittels MALDI-TOF-Massenspektrometrie zeigte, dass die Festphasenpeptidsynthese des Polyprolins am mikrowellengestützten Peptidsynthesizer ein Produktgemisch mit einer sehr breiten Massenverteilung erzeugt hatte. Dementsprechend konnte keine Selbstassemblierung von Makromolekülen mit einer definierten Länge stattfinden. Die Existenz einer LLC-Phase war selbst in wässrigen Medien nicht nachweisbar. Trotzdem wird dieser Ansatz im AK. THIELE mit optimierten Synthesemethoden weiter verfolgt.

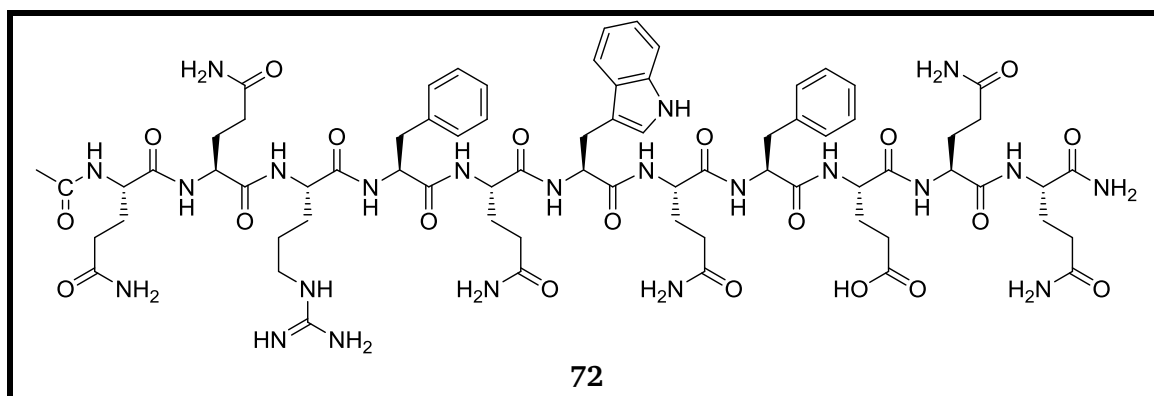
Die von AGGELI ET AL. publizierten Peptide<sup>[25]</sup> zeigen in Lösung ab einer bestimmten kritischen Konzentration Schlieren-Texturen und ähneln damit stark einem Flüssigkristall. Diese Tatsache könnte dazu genutzt werden, um ein entsprechendes Orientierungsmedium für die NMR zur Messung von RDCs zu entwickeln. An die literaturbekannten Peptide, die später modifiziert werden sollen, wird die zusätzliche Bedingung gestellt, dass sie nicht mehr als 30 Aminosäuren enthalten sollen. Längere Polypeptide können aufgrund der abnehmenden Löslichkeit in gängigen Lösemitteln nur sehr schlecht sequenziell am Stück hergestellt werden. Außerdem steigt mit zunehmender Kettenlänge die Wahrscheinlichkeit, dass Deletionen von Aminosäuren auftreten, die zu Produktgemischen führen. In der Regel behindern die Nebenprodukte die Selbst-assemblierung der Peptide, was sich wiederum fatal auf die Ausbildung einer LLC-Phase auswirkt. Die Abtrennung der Nebenprodukte an der HPLC gestaltet sich oftmals schwierig, weil die verkürzten Peptide ein ähnliches Retentionsverhalten zeigen wie das gewünschte Hauptprodukt. Selbst bei reinen Produktfraktionen kann das Fehlen einer Aminosäure in einer kurzen Peptidsequenz schon ausschlaggebend sein, wenn sich keine Überstruktur in Lösung bildet.

#### 4.2.1. $\beta$ -Strukturbildner 72, P<sub>11</sub>-II: Ac-Q-Q-R-F-Q-W-Q-F-E-Q-Q-NH<sub>2</sub>

AGGELI ET AL. veröffentlichten zahlreiche Ergebnisse zu Peptiden, die in Lösung eine sehr stabile  $\beta$ -Faltblattstruktur ausbilden können. Dabei wurde zunächst ein Peptid aus der Transmembranregion eines spannungsgesteuerten Kaliumionen-Kanal-Proteins (IsK)<sup>[305]</sup> als Modell ausgewählt und systematisch weiterentwickelt.

Die Untersuchung der Selbstassemblierung begann beim Peptid K27 (H-K-L-E-A-L-Y-I-L-M-V-L-G-F-F-G-F-F-T-L-G-I-M-L-S-Y-I-R-OH,  $M_W = 3156.93$  Da) sowie der verkürzten Variante K26 (H-K-E-A-L-Y-I-L-M-V-L-G-F-F-G-F-F-T-L-G-I-M-L-S-Y-I-R-OH,  $M_W = 3043.77$  Da). Sowohl die Gelierung als auch die Doppelbrechung konnten ab einer kritischen Konzentration in Wasser beobachtet werden. Die erhaltenen Erkenntnisse, die ausführlich in der Literatur dargestellt sind, führten zum reduzierten Peptid K24 (H-K-L-E-A-L-Y-V-L-G-F-F-G-F-F-T-L-G-I-M-L-S-Y-I-R-OH,  $M_W = 2799.42$  Da),<sup>[258, 259, 272, 273]</sup> das schließlich den Weg für das De-Novo-Design der  $\beta$ -Strukturbildner P<sub>11</sub>-I (Ac-Q-Q-R-Q-Q-Q-Q-E-Q-Q-NH<sub>2</sub>,  $M_W = 1497.55$  Da) sowie P<sub>11</sub>-II (Ac-Q-Q-R-F-Q-W-Q-F-E-Q-Q-NH<sub>2</sub>,  $M_W = 1593.73$  Da) bereitete.<sup>[25]</sup> Obwohl die Peptide im Laufe der Entwicklung immer kürzer geworden sind und damit leichter hergestellt werden können, hat ihre Tendenz, eine stabile Überstruktur in Lösung zu bilden, stark zugenommen.

Das Peptid **72**, P<sub>11</sub>-II, (vgl. **Abb. 4-23**) wurde für eigene Untersuchungen, ein peptidbasiertes, Orientierungsmedium zu finden, ausgewählt. Es formt in Lösung 8 nm breite, stabile Fibrillen ( $\cong 200$  k<sub>B</sub>T), die aus acht antiparallel angeordneten  $\beta$ -Faltblattbändern bestehen und eine Persistenzlänge zwischen 20-70  $\mu$ m aufweisen. Bereits ab einer Peptidkonzentration von 0.9 mmol/L bildet sich laut Literatur eine nematische Lösung aus, die schließlich bei einer Konzentration von mehr als 4 mmol/L zu einem selbst-stützenden Gel wird, das eine Doppelbrechung aufweist.<sup>[25]</sup>



**Abb. 4-23**  $\beta$ -Strukturbildner **72**, P<sub>11</sub>-II,  $M_W = 1594.71$  Da.

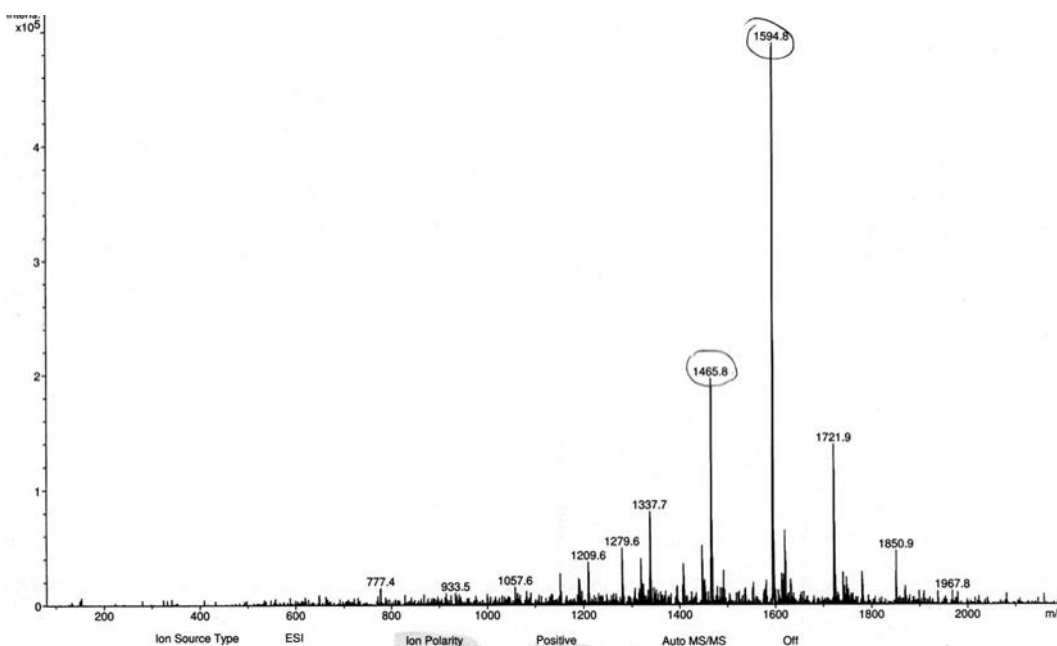
Die in der Literatur beschriebenen Eigenschaften des Peptids **72** entsprechen genau den Anforderungen an ein Material, das in der Lage sein sollte eine LLC-Phase auszubilden. Darüber hinaus ist es mit nur 11 Aminosäuren ein kurzes Oligomer, das relativ unproblematisch in einer automatisierten Peptidsynthese hergestellt werden könnte. Schließlich muss nach erfolgter Synthese des Peptids **72** unbedingt ein Endcapping erfolgen, das laut den Veröffentlichungen von HAMLEY ET AL. die Selbstassemblierung unterstützt.<sup>[249]</sup>



Der  $\beta$ -Strukturbildner P<sub>11</sub>-II ist mithilfe des mikrowellengestützten Peptidsynthesizers Liberty® (CEM) auf einem Rink Amid AM-Harz erfolgreich in großer Reinheit hergestellt worden. Dabei wurde sowohl ein Standard-Syntheseprotokoll als auch eine Modifikation der in Pulsen erfolgenden Mikrowellenheizung angewandt. Beide Verfahren hatten eine sehr große Ausbeute.

Die Aktivierung der Aminosäuren erfolgte mit einer HBTU/HOBT-Lösung. Die N-terminalen Fmoc-Schutzgruppe wurde mittels Piperidin in DMF entfernt. Das Endcapping wurde mit Essigsäureanhydrid durchgeführt. Das finale Produkt wurde vom Harz mit einer Mischung aus TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95/2.5/2.5 vol.) abgespalten, wobei auch andere Abspaltungs-Cocktails ohne bemerkbare Verbesserung ausprobiert worden sind.

Die Synthese des Peptids **72** ist mehrmals durchgeführt worden und das erhaltene Rohprodukt zeigte in den entsprechenden MS-ESI- sowie MS-MALDI-TOF-Spektren (vgl. **Abb. 4-24**) eine bemerkenswert hohe Reinheit. Die anschließende HPLC-Analyse bestätigte, dass das gewünschte Produkt zu mehr als 90 Prozent entstanden ist.



**Abb. 4-24** ESI-Massenspektrum des Roh-Peptids **72**, P<sub>11</sub>-II.

**Tab. 4-14** Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh-Peptids **72**.

Masse gem. [Da]	Masse ber. [Da]	Fragment
777.4	777.82	[M-5Q-R-Ac+Na] <sup>+</sup>
933.5	934.03	[M-3Q-F-E+Na] <sup>+</sup>
1057.6	1057.09	[M-Q-E-F-R+Na] <sup>+</sup>
1209.6	1210.34	[M-E-2Q+H] <sup>+</sup>
1279.6	1281.38	[M-W-Q+H] <sup>+</sup>
1337.7	1338.48	[M-Q-E+H] <sup>+</sup>
1465.8	1466.61	[M-E+H] <sup>+</sup>

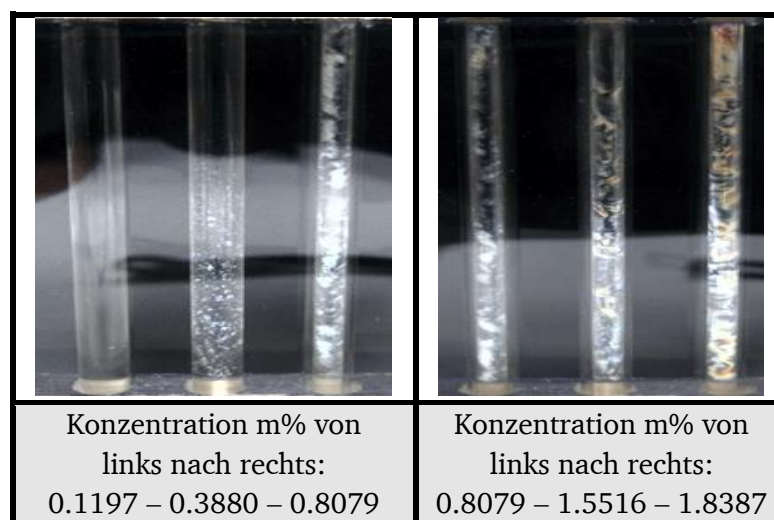
Masse gem. [Da]	Masse ber. [Da]	Fragment
1594.8	1594.73	$[M+H]^+$
1721.9	-	nicht identifiziert
1850.9	-	nicht identifiziert
1967.8	-	nicht identifiziert

Angesetzte Proben des Rohpeptids gelöst in MeOD sowie D<sub>2</sub>O lieferten jedoch bei einer höheren Konzentration als 4 mmol/L in Lösung keine nematischen Flüssigkeiten oder Gele. Selbst nach mehreren Monaten Wartezeit für die Equilibrierung war keine Schlierentextur zu beobachten. Der Verdacht lag nahe, dass geringe Verunreinigungen erhebliche negative Auswirkungen auf die Selbstassemblierung hatten, sodass die Ergebnisse aus der Literatur auf diese Weise nicht reproduziert werden konnten.

Das vermeintlich ausreichend saubere Rohprodukt wurde mittels präparativer RP-HPLC weiter aufgereinigt, bis schließlich eine Reinheit von mehr als 99 Prozent erzielt worden ist. Dabei gestaltete sich das praktische Vorgehen als äußerst problematisch, denn die konzentrierte Peptidlösung war äußerst zähflüssig und erhöhte den Gesamtdruck im HPLC-System auf so hohe Werte, dass ein Verstopfen der Trennsäulen befürchtet worden ist.

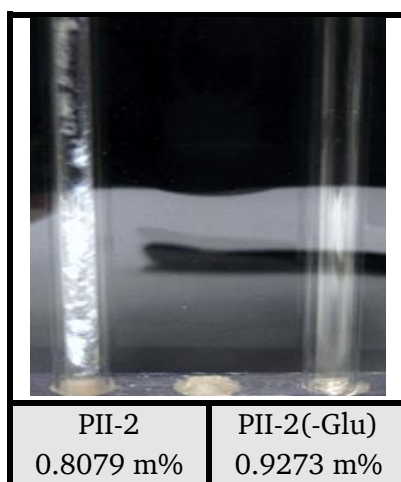
Die sauber abgetrennten Fraktionen sind abermals mittels MS-ESI-Massenspektrometrie analysiert und diejenigen mit nur einem beobachteten Massenpeak zum Ansetzen neuer Proben verwendet worden. Reine Peptide mit Deletionen wurden ebenfalls genutzt.

Die beobachteten Effekte unterschieden sich dramatisch von den bisherigen Experimenten mit dem weniger sauberen Rohprodukt. Nach einer Woche Standzeit bei Raumtemperatur bildeten die in D<sub>2</sub>O gelösten Peptidproben die typischen, doppelbrechenden Schlieren einer nematischen Struktur in einem Flüssigkristall, die unter einem Polarisationsfilter besonders gut sichtbar waren. Dabei war die Entstehung der Sekundärstruktur wie in der Literatur beschrieben stark konzentrationsabhängig (vgl. **Abb. 4-25**) und somit typisch für die  $\beta$ -Faltblattstruktur.



**Abb. 4-25** Peptid 72, P<sub>11-II</sub>, in D<sub>2</sub>O.

Eine isolierte Fraktion wies im Vergleich zum  $\beta$ -Strukturbildner P<sub>11</sub>-II die Deletion einer Glutaminsäure auf. Um den Zusammenhang mit der Primärstruktur sowie der Tendenz zur Selbstassemblierung in Lösung herzustellen, wurden zwei Proben ähnlicher Konzentration angesetzt. Eine enthielt das gewünschte Peptid **72**, während die andere das verkürzte Derivat in Lösung hatte (vgl. Abb. 4-26).



**Abb. 4-26** Peptid **72**, P<sub>11</sub>-II, und um eine Glutaminsäure verkürztes Derivat in D<sub>2</sub>O.

Selbst nach einer verlängerten Standzeit von einem Monat bei Raumtemperatur bildete das verkürzte Derivat keine optisch sichtbare Sekundärstruktur aus. Das Fehlen einer Aminosäure in der Primärsequenz beeinträchtigte erheblich die Selbstassemblierung. Diese Beobachtung lässt die Schlussfolgerung zu, dass die Struktur des Peptids P<sub>11</sub>-II keine Optimierung im Hinblick auf eine noch kürzere Kettenlänge bei gleichbleibender Selbstorganisation erlaubt.

Das Peptid **72** bildete nematische Schlierentexturen nur in Wasser. In organischen Lösemitteln wie Chloroform oder Benzol war es schwer löslich, während in DMF sowie DMSO die Ausbildung einer sichtbaren Sekundärstruktur ausblieb. Ebenso war eine gute Löslichkeit von P<sub>11</sub>-II in MeOH zu beobachten, die jedoch nicht zur nematischen Gelphase führte. Die Wasserstoffbrückenbindungen zwischen dem Lösemittel und dem Peptid scheinen mitunter die treibende Kraft zur Ausbildung einer stabilen  $\beta$ -Faltblattstruktur zu sein.

Messungen von <sup>2</sup>H-NMR-Spektren der Peptidproben in D<sub>2</sub>O zeigten jedoch keine Quadrupolaufspaltung des Lösemittelsignals an. Auch eine Variation der Temperatur im NMR-Spektrometer lieferte ebenfalls kein wichtiges Indiz für die Existenz einer orientierenden LLC-Phase, sodass die Erfassung der RDCs eines geeigneten, wasserlöslichen Analyten in diesem Medium obsolet wurde. Dennoch erscheint die Beobachtung eines gelartigen Werkstoffes mit nematischen Schlierentexturen als ein Schritt in die richtige Richtung zur Entwicklung eines peptidbasierten, kurzkettigen Orientierungsmediums.

Aufgrund der in der Literatur verfügbaren Stoffdaten zum Peptid **72** von AGGELI ET AL. wurde auf eigene CD-Spektroskopie-Messungen verzichtet.<sup>[25]</sup>

#### 4.2.2. Modifikation des $\beta$ -Strukturbildners 72, P<sub>11</sub>-II: C<sub>6</sub>H<sub>11</sub>O<sub>2</sub>-Q-Q-R-F-Q-W-Q-F-E-Q-Q-NH<sub>2</sub>

Das Peptid 72, P<sub>11</sub>-II, könnte möglicherweise als ein Orientierungsmedium geeignet sein, wenn folgende Probleme überwunden werden können. Die Löslichkeit in organischen- aprotischen Lösemitteln muss deutlich verbessert werden, während die Tendenz zur Selbstassemblierung weiter verstärkt werden soll. Beide Ziele könnten durch eine Modifikation des Endcappings erreicht werden, indem statt Essigsäure ein anderes Molekül für die Acylierung verwendet wird. Genügend Anhaltspunkte für diese These liefern Arbeiten von HAMLEY ET AL. [249, 263, 306, 307]

Da sich die Hexancarbonsäure (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>2</sub>) am N-Terminus des AHC- $\beta$ -Peptids 66 bewährt hat, um die Selbstassemblierung zu verstärken, wurde das Peptid 72 mit dieser derivatisiert. Die Peptidsynthese erfolgte wie zuvor beschrieben mittels SPPS, lediglich die Endcapping-Lösung musste entsprechend angepasst werden. Das erhaltene Produkt 72a (M<sub>w</sub> = 1649,83 Da), ein mit Hexancarbonsäure am Peptidende acyliertes P<sub>11</sub>-II, das so nicht literaturbekannt ist, wurde mittels MS-ESI-Massenspektrometrie analysiert.

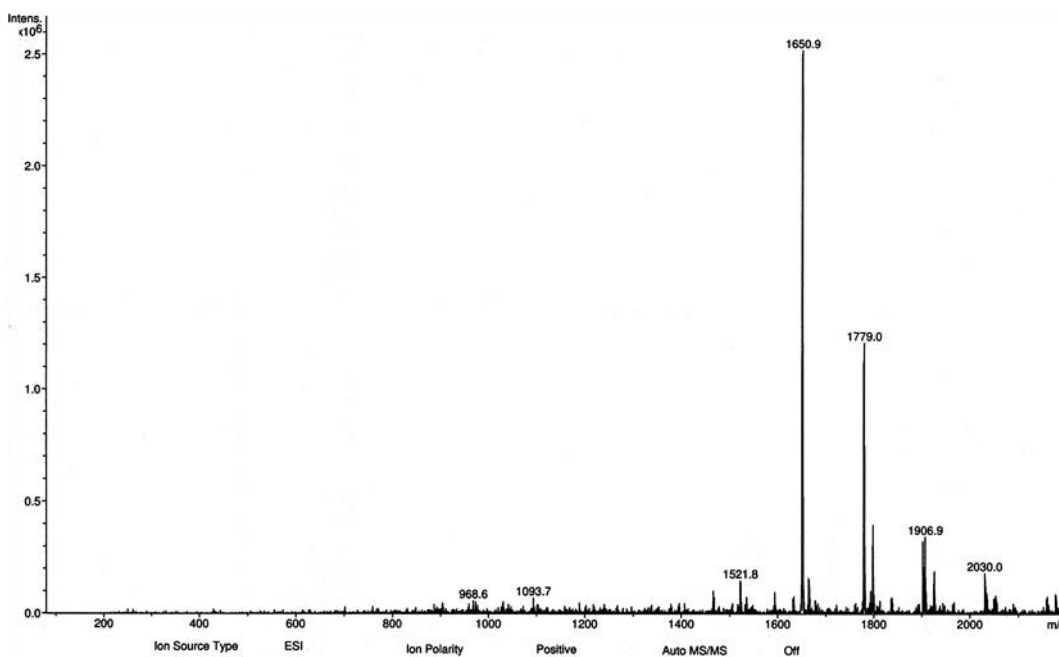


Abb. 4-27 ESI-Massenspektrum des Roh-Peptids 72a.

Tab. 4-15 Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh-Peptids 72a.

Masse gem. [Da]	Masse ber. [Da]	Fragment
968.6	-	nicht identifiziert
1093.7	-	nicht identifiziert
1521.8	1522.71	[M-E+H] <sup>+</sup>
1650.9	1651.82	[M+H] <sup>+</sup>
1779.0	-	nicht identifiziert
1906.9	-	nicht identifiziert
2030.0	-	nicht identifiziert

Das Massenspektrum (vgl. Abb. 4-27) zeigte, dass überwiegend das gewünschte Hauptprodukt entstanden ist. Aufbauend auf den Erkenntnissen zum Zusammenhang zwischen der Peptidreinheit sowie der Selbstassemblierung wurde das Peptid **72a** mittels präparativer RP-HPLC bis zu einer Reinheit von mehr als 99 Prozent aufgereinigt. Die beim Peptid **72** auftretenden Probleme während der präparativen Trennung waren beim Derivat **72a** noch stärker ausgeprägt, da bereits eine geringere Peptidkonzentration zur Gelierung der in das HPLC-System zu injizierenden Probe führte. Die beobachteten Effekte sind nicht auf eine schlechte Löslichkeit sondern auf eine erhöhte Tendenz zur Selbstassemblierung zurückzuführen.

Das reine Produkt **72a** löste sich nun besser in organischen Lösemitteln wie Chloroform, Methanol, Acetonitril oder Benzol. Allerdings bildeten sich in den selbst-stützenden Gelen aus gelösten Peptidproben keine nematischen Schlierentexturen aus.  $^2\text{H}$ -Messungen am NMR-Spektrometer zeigten keine Aufspaltung der deuterierten Lösemittelsignale an, die auf die Existenz eines Orientierungsmediums hinweisen könnten.

Tab. 4-16 Zugabe des Peptids **72a** zu MeOD- $\text{D}_4$ ,  $\text{D}_2\text{O}$  und Beobachtung der Doppelbrechung.

Konzentration [m%]	1.912	3.352	9.689	10.329	Lösemittel
LLC-Phase [ja/nein]	nein	nein	nein	nein	MeOD- $\text{d}_4$
	nein	nein	nein	nein	$\text{D}_2\text{O}$

Untersuchungen mittels CD-Spektroskopie sollten klären, ob das modifizierte Peptid **72a** in organischen Lösemitteln eine ähnliche Sekundärstruktur ausbildet wie sein ursprüngliches Vorbild  $\text{P}_{11}\text{-II}$  in Wasser.

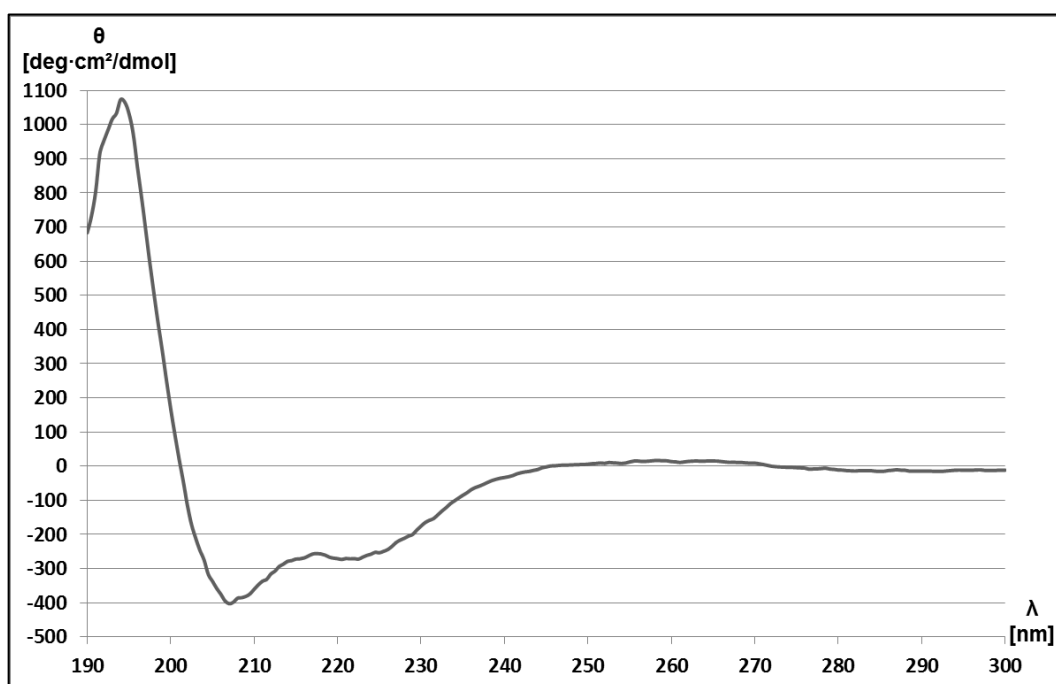


Abb. 4-28 CD-Spektrum des Peptids **72a** in TFE,  $c = 0.6 \text{ mg/mL} = 0.364 \text{ mmol/L}$ .

---

Das CD-Spektrum des Peptids **72a** (vgl. **Abb. 4-28**) zeigte zwischen einem globalen Maximum bei 194 nm und einem globalen Minimum bei 207 nm sowie einem weiteren lokalen Maximum bei 217 nm mit einem darauf folgenden lokalen Minimum bei 222 nm den typischen Kurvenverlauf einer  $\alpha$ -Helix an. Die  $\beta$ -Faltblattstruktur ist nur zu einem sehr geringen Anteil enthalten. Die Dekonvolution der Messdaten sollte Rückschlüsse auf die prozentuale Zusammensetzung der Sekundärstrukturen erlauben, wozu allerdings eine spezielle Software benötigt wird. Die Abweichung des CD-Spektrums von P<sub>11</sub>-II<sup>[25]</sup> kann damit erklärt werden, dass TFE statt eines wässrigen Puffers wegen der besseren Transparenz im UV-Bereich als Lösemittel verwendet worden ist. Es ist dafür bekannt helikale Überstrukturen in Lösung zu stabilisieren.

Das modifizierte Derivat **72a** besitzt nach der Acylierung am *N*-Terminus mit der Hexancarbonsäure ein höheres Aspektverhältnis als P<sub>11</sub>-II mit der Essigsäure und zeigte eine stärkere Selbstassemblierung. Dieser Effekt machte sich durch eine stärkere Gelierung der wässrigen Probenlösung bemerkbar und erschwerte die präparative Trennung sowie Analyse mit der RP-HPLC.

Ein Ziel auf dem Weg zu peptidbasierten Orientierungsmedien ist mithilfe einer einfachen chemischen Modifikation des Peptids P<sub>11</sub>-II am *N*-Terminus erreicht worden. Die Selbstassemblierung wurde durch ein höheres Aspektverhältnis verstärkt. Jedoch zeigten CD-Spektren des Derivats **72a** in TFE, dass die Wasserstoffbrückenbindungen, die für die Ausbildung der  $\beta$ -Faltblattstruktur verantwortlich sind, in organischen Lösemitteln stark verringert wurden und sich eine helikale Überstruktur formte. Dementsprechend müssten die Seitenketten des Peptids P<sub>11</sub>-II so modifiziert werden, dass die Mesogene sich in organischen Lösemitteln durch andere Wechselwirkungen wie zum Beispiel  $\pi$ - $\pi$ -Stacking zusammenlagern können. Wenn die erhaltene  $\alpha$ -Helix eine ähnliche Stabilität aufweist wie die  $3_{14}$ -Helix des rigiden  $\beta$ -Peptids **66**, ist eine Anwendung als Orientierungsmedium für die NMR sehr wahrscheinlich.



---

## 5. Fazit und Ausblick

---

Im Rahmen der vorgelegten Arbeit sind in der Literatur bisher unbekannte  $\beta$ -Peptide **67-69** ( $\text{Ac}-[\beta^3\text{hK}]_7\text{-NH}_2$ ,  $\text{H}-[\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})-\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})-\beta^3\text{hK}]_4\text{-OH}$ ,  $\text{H}-[\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})-\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})-\beta^3\text{hK}]-[\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})]_3-[\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})-\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})-\beta^3\text{hK}]_2\text{-OH}$ ) sowie deren synthesebedingt verkürzte Oligomere erfolgreich hergestellt und isoliert worden. Die Schwierigkeiten bei der Produktion wurden herausgearbeitet, sodass die Herstellung von  $\beta$ -Peptiden mithilfe der Festphasen-peptidsynthese als etabliert angesehen werden kann. Die für die Synthese der Makromoleküle erforderlichen  $\beta$ -Aminosäuren sind – mit Ausnahme von ACHC – in einer sehr großen Ausbeute sowie Reinheit im Labor erhalten worden.

Obwohl  $\beta$ -Peptide viele interessante Eigenschaften aufweisen, sind die aus den  $\beta$ -Homamino-säuren aufgebauten, untersuchten Derivate nicht als Orientierungsmedien zur Messung von RDCs in der NMR-Spektroskopie geeignet. Rigide  $\beta$ -Aminosäuren wie ACHC mit einer eingeschränkten Konformation müssen die helikale Sekundärstruktur des Peptids in Lösung stabilisieren, damit sich eine LLC-Phase ausbilden kann. Auch andere, unnatürliche Aminosäuren sind für die Herstellung von Orientierungsmedien interessant und müssten dahingehend untersucht werden, ob sie die Selbstassemblierung unterstützen. Allerdings führten ausgerechnet die rigide, sterisch-anspruchsvolle Struktur sowie die Tendenz zur Selbstassemblierung zu erheblichen Schwierigkeiten bei der Synthese des ACHC-Peptids **60**. Deletionen der  $\beta$ -Aminosäuren traten auf und führten zu Nebenprodukten, die nur schwer mit etablierten Methoden wie der HPLC abgetrennt werden konnten. Dabei spielt die hohe Reinheit der kurzen  $\beta$ -Peptide eine essenzielle Rolle bei der Selbstassemblierung der Mesogene sowie der Stabilität der Überstruktur in Lösung. Bereits geringe Verunreinigungen behindern die Bildung einer LLC-Phase, sodass Synthesewege gewählt werden müssen, die keine Nebenprodukte entstehen lassen.

Im Falle der  $\gamma$ -Aminosäure **71**, 3-Aminoadamantan-1-carbonsäure, hat sich gezeigt, dass eine rigide Struktur alleine nicht ausreicht. Vielmehr muss auch die Geometrie stimmen, die die Bausteine pro Helixwindung einnehmen, um inter- sowie intramolekulare Wechselwirkungen zuzulassen, die für eine Selbstorganisation der Moleküle in Lösung unbedingt notwendig sind. Jedoch kann das Adamantyl-Molekül aufgrund seiner festen, bekannten Abstände zwischen den Atomen sowie der Fixierung in der Käfigstruktur wichtige Variablen in Modellen von Peptiden durch bekannte Werte ersetzen und so die Berechnung von Sekundärstrukturen anhand einer vorgegebenen Primärstruktur erleichtern. Das zugehörige, in der Literatur unbekannte  $\beta$ - $\gamma$ -Peptid **70** ( $6-\beta^3\text{hY}-[\text{Ada}^{\text{Gly}}-\text{Ada}^{\text{Gly}}-\beta^3\text{hK}]_3\text{-NH}_2$ ) konnte nicht vollständig synthetisiert werden. Lediglich verkürzte Oligomere sind erhalten worden, die keine LLC-Phase ausbilden können.

Die Klasse der  $\beta$ -Strukturbildner hat die besten Ergebnisse bezüglich einer potenziellen Verwendung als Orientierungsmedium gezeigt. Die LLC-Phase des Peptids **72** ( $\text{Ac-Q-Q-R-F-Q-W-Q-F-E-Q-Q-NH}_2$ ),  $\text{P}_{11}\text{-II}$ , besaß eine nematische Schlierentextur mit doppelbrechenden Eigenschaften in Lösung, wie sie von flüssigkristallinen Orientierungsmedien erwartet wird. Allerdings machte der fehlende Nachweis einer Signalaufspaltung des Lösemittels in  $^2\text{H}$ -NMR-Spektren die Messung von RDCs obsolet. Darüber hinaus zeigte das Peptid **72** nur in wässrigen Medien eine starke Selbstassemblierung, die hauptsächlich auf die intermolekularen Wasserstoffbrückenbindungen zurückzuführen ist, was es als Orientierungsmedium für wasserunlösliche, organische Moleküle unbrauchbar machte.



---

Um die genannten Limitierungen zu überwinden, bot es sich an, die  $\beta$ -Strukturbildner entweder an den Seitenketten oder am finalen *N*-Terminus zu funktionalisieren, denn neben der Löslichkeitsvermittlung zu organischen Lösemitteln werden oftmals kooperative Effekte bei der Selbstassemblierung der Peptide beobachtet. Die Acylierung mit langkettigen Alkancarbonsäuren oder entsprechenden aktivierten Anhydriden findet eine breite Anwendung und wurde am  $\beta$ -Strukturbildner **72** mit Hexancarbonsäure versucht. Das Resultat ist vielversprechend, denn beim modifizierten Makromolekül wurde in Lösung tatsächlich eine erhöhte Tendenz zur Selbstassemblierung beobachtet, die letztendlich zu einer geeigneten LLC-Phase führen könnte.

Künftige Versuche, mit modifizierten  $\beta$ -Strukturbildnern ein Orientierungsmedium zu entwickeln, sollten nicht außer Acht lassen, dass die PEGylierung ein weiteres wichtiges Instrument der chemischen Modifikation ist. Die Kupplung funktioneller Gruppen mit aktiviertem Polyethylenglycol (PEG) könnte das Aspektverhältnis erhöhen und somit die Ausbildung Mesogen-artiger Überstrukturen fördern. Darüber hinaus erhöht an ein Makromolekül angehängtes PEG dessen Löslichkeit hauptsächlich in wässrigen, mit zunehmender PEG-Kettenlänge aber auch in organischen Lösemitteln.

Es sind sehr viele  $\beta$ -Strukturbildner literaturbekannt wie zum Beispiel die Peptide  $A_6K$ ,  $A_6D$  oder  $V_6D$ , die noch nicht als Orientierungsmedien getestet worden sind und dabei vielversprechende Eigenschaften zeigen.<sup>[83]</sup> Ständig werden weitere Strukturen gefunden oder nach Modellen gezielt entworfen, sodass mit vergleichsweise wenig Aufwand, auch in der Laborsynthese sowie präparativer Aufreinigung, sehr viele geeignete Peptide überprüft werden können.<sup>[274]</sup>

Es gibt in der Literatur nur sehr wenige Untersuchungen zur Selbstorganisation von Peptidmischungen in Lösung, die aus mindestens zwei Peptiden bestehen.<sup>[308, 309]</sup> Dabei ist es vorstellbar, dass die Seitenketten der Makromoleküle mit passenden Partnern wie in einem Reißverschluss wechselwirken und so die Assemblierung fördern. Unzählige Mischungsmöglichkeiten und zahlreiche Berechnungsmodelle eröffnen ein weites Forschungsfeld, das ebenfalls zu neuartigen Orientierungsmedien für die NMR-Spektroskopie führen kann.

Im Hinblick auf die Entwicklung peptidbasierter Orientierungsmedien für die NMR erscheint die Verwendung chemisch modifizierter  $\beta$ -Strukturbildner zielführend zu sein, denn diese Peptidklasse kann aus kommerziell erhältlichen  $\alpha$ -Aminosäuren in beliebigem Maßstab hergestellt werden, sodass mit einem geringen Zeitaufwand eine große Derivate-Bibliothek angelegt werden kann. Rigide Aminosäuren, die die Peptidsynthese erheblich erschweren, werden nicht benötigt, sofern das Motiv der Amphiphilie im Mesogen als stabilisierende Wechselwirkung mit dem Lösemittel erhalten bleibt. Außerdem sind  $\beta$ -Strukturbildner – auch im Zuge der Alzheimer-Forschung – wesentlich von anderen Forschungsgruppen untersucht worden und bieten eine große Auswahl an in der Literatur frei verfügbaren Stoffdaten, auf die bei Bedarf zurückgegriffen werden kann. Künftige Forschungen sollten sich folglich auf die Applikation von  $\beta$ -Strukturbildnern zur Messung von RDCs in der NMR-Spektroskopie konzentrieren.

---

## 6. Material und Methoden

---

### 6.1. Circular dichroismus-Spektroskopie (CD)

Die Circular dichroismus-Spektren wurden an einem Gerät der Firma Jasco, J-810, das ein Peltierelement, PTC-423S/15, als Temperiereinheit, besitzt, aufgenommen. Die gemessenen Proben waren in 0.1 cm (Durchgangsweg) Quarzküvetten angesetzt. Zwecks übersichtlicher Darstellung wurden die Messwerte  $\theta$  in [mdeg] entsprechend folgender Formel in die molare Elliptizität  $\theta_{\text{mol}}$  in [deg·cm<sup>2</sup>/dmol] umgerechnet und gleichzeitig auf eine Peptidbindung normiert:

$$\theta_{\text{mol}} \left[ \text{deg} \cdot \frac{\text{cm}^2}{\text{dmol}} \right] = \frac{M \left[ \frac{\text{g}}{\text{mol}} \right] \cdot \theta [\text{mdeg}]}{10 \cdot c \left[ \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right] \cdot d [\text{cm}] \cdot n} \quad (\text{Gl. 4})$$

$M$  = Molmasse Peptid

$c$  = Konzentration Peptidprobe

$\theta$  = Messwerte

$d$  = Durchgangsweg Küvette

$n$  = Anzahl Peptidbindungen

### 6.2. Drehwertmessung

Die Bestimmung des Drehwerts wurde an einem Polarimeter 241 der Firma Perkin Elmer, das mit einem Haake D8 Thermostat bestückt ist, durchgeführt. Die Messungen erfolgten in 1 dm Küvetten.

### 6.3. Dünnschichtchromatographie

Der Reaktionsverlauf von Molekülsynthesen wurde mithilfe von Kieselgelfertigplatten, SilG/UV254, der Firma Macherey-Nagel qualitativ verfolgt. Die Platten hatten eine Schichtdicke von 0.2 mm und waren mit einem Fluoreszenz-Marker imprägniert, sodass darauf chromatographierte Verbindungen mit funktionellen Gruppen unter einer UV-Lampe bei 254 nm sichtbar waren. Zusätzlich wurden aufgetrennte Substanzen mit einer 1%-igen Kaliumpermanganat-Lösung behandelt sowie mit einem Heißluftfön unter Hitzeeinwirkung entwickelt. Überschüssiges Kaliumpermanganat wurde anschließend in einem Wasserbad entfernt, während die angefärbten, oxidierten Verbindungen auf dem Kieselgel haften blieben.

### 6.4. Fourier-Transform-Infrarot-Spektroskopie (FTIR)

Die Messung von FTIR-Spektren erfolgte an einem Gerät der Firma Bruker, Vector 22. Dabei wurden flüssige oder gelöste Proben auf einem NaCl-Kristall aufgebracht, während Feststoffe mit KBr gepresst analysiert worden sind.

## 6.5. Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Die HPLC-Chromatogramme wurden an einem System der Firma Jasco erfasst, das aus zwei semipräparativen Pumpen, 2086-PU, einem variablen, automatischen Probenaufgeber, 2055-AS, einem Säulenthermostat, CO-2060, einem programmierbaren UV/VIS-Detektor mit einer variablen Wellenlängeneinstellung 190 bis 600 nm, 2075-UV, sowie einem manuellem Probeaufgabeventil, RH 7725-I, besteht. Die eingestellten Messbedingungen waren 220 nm am UV/VIS-Detektor sowie 25° C am Säulenthermostat.

Die Trennung der Peptide erfolgte mittels gepackten RP-HPLC-Säulen der Firma Dr. Maisch im analytischen wie auch präparativen Maßstab. Für die analytischen Messproben wurden die Trennsäulen Reprosil-Gold 120 C18, C8, C4 sowie Reprosil-Pur 120 C18-AQ der Dimension 250 mm Länge auf 4.6 mm Durchmesser und der Partikelgröße 5  $\mu\text{m}$  benutzt. Die Flussrate betrug 1 mL/min Zur präparativen Trennung dienten Säulen mit demselben Packmaterial wie die analytischen, aber einem größeren Durchmesser von 20 mm. Die Flussrate betrug 8 bis 10 mL/min Zusätzlich wurde für schnelle analytische Untersuchungen eine monolithische Performance-Säule Chromolith® RP-18 der Firma Merck Millipore mit der Dimension 100 mm Länge auf 4.6 mm Durchmesser verwendet; Flussrate 2 mL/min Die Elution der Peptide erfolgte mittels eines Lösemittelgradienten aus Puffer A (0.01% TFA in  $\text{H}_2\text{O}$ ) und B (0.01% TFA/20%  $\text{H}_2\text{O}/\text{MeCN}$ ). Die Puffer wurden vor der Nutzung mit einem Ultraschallbad entgast. Die Trennung erfolgte mittels eines Gradienten – nähere Angaben siehe bei den einzelnen Peptiden.

Die Auswertung der Daten erfolgte über die Software "ChromPass-Galaxie-I" der Firma Jasco.

## 6.6. Kernspinresonanz-Spektroskopie (NMR)

Für die routinemäßige Qualitätsanalyse der selbst hergestellten  $\beta$ -Aminosäuren sowie anderer Hilfsreagenzien wurden die NMR-Spektren an den Spektrometern Bruker Avance II 300 MHz sowie Bruker DRX 500 MHz der Firma Bruker gemessen und mit den Messdaten kommerziell erworbener Chemikalien oder Literaturwerten verglichen.

Die Erstellung detaillierter NMR-Spektrensätze sowie die Untersuchungen potenzieller LLC-Phasen als Orientierungsmedien mittels  $^2\text{H}$ -Spektren wurden an den NMR-Spektrometern Bruker Avance III HD 400 MHz oder Bruker DRX 400 MHz und Bruker Avance III 600 MHz durchgeführt.

Die chemische Verschiebung ist in den NMR-Spektren in ppm angegeben und bezieht sich auf Tetramethylsilan (TMS) als internen Standard (Referenz  $\delta_{\text{TMS}} = 0$  ppm). Bei TMS-freien, deuterierten Lösemitteln erfolgte die Kalibrierung mithilfe von nicht-deuterierten Spurenverunreinigungen:<sup>[310]</sup>  $\text{CDCl}_3$  ( $\delta[^1\text{H}]_{\text{CHCl}_3} = 7.26$  ppm,  $\delta[^{13}\text{C}]_{\text{CDCl}_3} = 77.16$  ppm),  $\text{DMSO-}d_6$  ( $\delta[^1\text{H}]_{(\text{CHD}_2)(\text{CD}_3)\text{SO}} = 2.50$  ppm,  $\delta[^{13}\text{C}]_{(\text{CD}_3)_2\text{SO}} = 39.52$  ppm),  $\text{MeOD-}d_4$  ( $\delta[^1\text{H}]_{(\text{CHD}_2)\text{OD}} = 3.34$  ppm,  $\delta[^{13}\text{C}]_{\text{CD}_3\text{OD}} = 49.86$  ppm),  $\text{Benzol-}d_6$  ( $\delta[^1\text{H}]_{\text{C}_6\text{HD}_5} = 7.15$  ppm,  $\delta[^{13}\text{C}]_{\text{C}_6\text{D}_6} = 128.62$  ppm),  $\text{D}_2\text{O}$  ( $\delta[^1\text{H}]_{\text{HDO}} = 4.79$  ppm).

Die Feinstrukturen der Signale in den  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren werden wie folgt beschrieben: "s" für Singulett, "d" für Dublett, "t" für Triplet, "q" für Quartett, "m" für Multiplett, "dd" für Dublett von Dubletts usw. Besonders breite Signale werden mit "br" beschrieben. Die erfassten Messdaten wurden mit der Software Topspin 3.2 der Firma Bruker ausgewertet.

---

Für die Zuordnung wurden folgende NMR-Experimente genutzt:  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135, HSQC, HMBC, COSY.

## 6.7. Massenspektrometrie (MS)

Elektrospray-Ionisations-Massenspektren (ESI-MS) wurden an einem Gerät, Esquire LC, der Firma Bruker, das mit einer Quadrupol-Ionenfalle ausgerüstet ist, gemessen.

Matrix-unterstützte Laser-Desorption-Ionisations-Massenspektren (MALDI-MS) mit Flugzeitanalysator (TOF) wurden am System Voyager-DE der Firma AB SCIEX erfasst. Als Matrix wurde die  $\alpha$ -Cyano-4-hydroxycinnamssäure (HCCA) verwendet.

Elektronen-Ionisations-Massenspektren (EI-MS) wurden an einem Finnigan MAT 95 Massenspektrometer gemessen, das ein doppeltfokussierendes Sektorfeldgerät mit umgekehrter Nier-Johnson Geometrie als Analysator hat.

## 6.8. UV/VIS-Spektroskopie

Die Fmoc-Beladungsdichte auf einem SPPS-Harz wurde mithilfe des UV/VIS-Spektrophotometers V-630 der Firma Jasco bestimmt. Die Messungen erfolgten in Quarz-Küvetten mit einem Durchgangsweg von 1 cm. Die Abspaltung der Fmoc-Schutzgruppe erfolgte mit Piperidin oder 1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en (DBU). Für die Auswertung wurde die Software "Spectra Manager II" der Firma Jasco verwendet.

### 6.8.1. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Fmoc-Beladungsbestimmung mit Piperidin<sup>[290, 311]</sup>

- Fmoc-geschütztes SPPS-Harz (max. 10 mg) wird in ein Eppendorf-Gefäß eingewogen und der genaue Wert notiert.
- 800  $\mu\text{L}$  DMF werden zugeben und die Probe wird 15 Min. stehen gelassen.
- 200  $\mu\text{L}$  Piperidin werden zugesetzt, mit Vortexer gut durchmischt und wieder 15 Min. stehen gelassen.
- Nach Reaktion wird die Lösung abermals gevortext und anschließend 1:9 verdünnt, 100  $\mu\text{L}$  Probe zu 900  $\mu\text{L}$  DMF.
- Die Quarzküvetten werden mit der Lösung befüllt.
- Das UV/VIS-Spektrophotometer wird auf die Wellenlänge 301 nm eingestellt, Auto-Zero durchgeführt und der Blindwert aus DMF gemessen.
- Die verdünnte Probe wird drei Mal in Messzyklen zu je 5 Messungen alle 30 s gemessen, wobei pro Zyklus der Mittelwert durch die Auswertesoftware errechnet und der Blindwert automatisch abgezogen wird.
- Die erhaltenen Absorptionen erlauben mithilfe der unten stehenden Formel Rückschlüsse auf die Beladung des Harzes:

$$B \left[ \frac{\text{mmol}}{\text{g}} \right] = \frac{Abs_{301\text{nm}} \cdot V_{\text{cleavage}} \cdot d}{E_{\text{ext.coeff.}} \cdot w_{\text{width}} \cdot m_{\text{resin}}[\text{g}]} \quad (\text{Gl. 5})$$

$$V_{\text{cleavage}} = 1 \text{ mL}$$

$$d = 10$$

$$E_{\text{ext.coeff.}} = 7800 \frac{\text{mL}}{\text{mmol} \cdot \text{cm}}$$

$$w_{\text{width}} = 1 \text{ cm}$$

- Vereinfacht lautet die Formel nach dem Einsetzen der Faktoren:

$$B \left[ \frac{\text{mmol}}{\text{g}} \right] = \frac{Abs_{301\text{nm}} \cdot 10}{7800 \cdot m_{\text{resin}}[\text{g}]} \quad (\text{Gl. 5a})$$

### 6.8.2. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Fmoc-Beladungsbestimmung mit DBU<sup>[302]</sup>

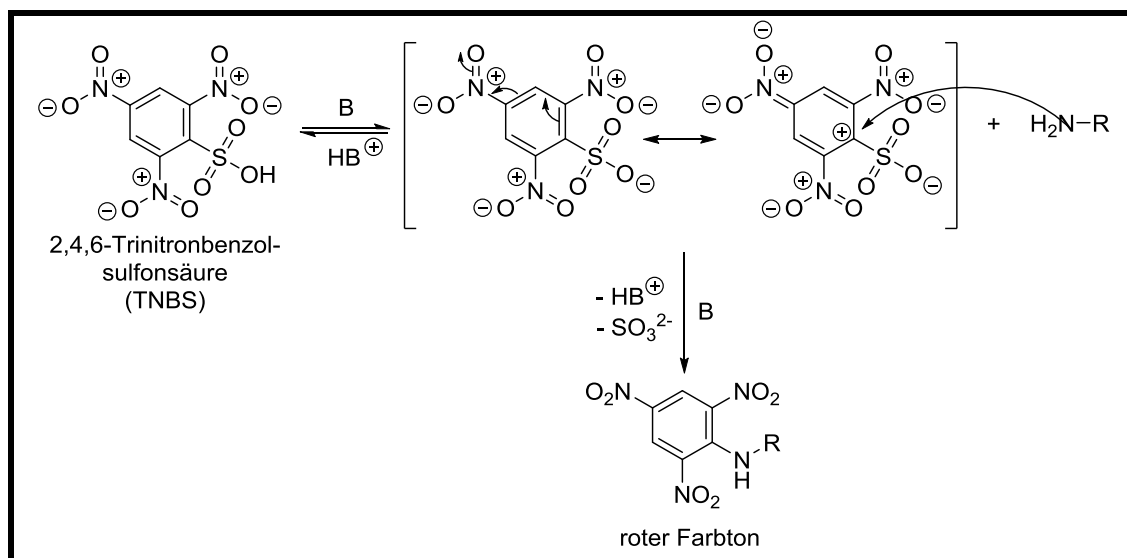
- 5 bis 10 mg des Fmoc-geschützten Harzes werden in einen 10 mL Maßkolben eingewogen und der genaue Wert notiert.
- 2 mL einer 2%-igen (v/v) Lösung von DBU in DMF werden zum Maßkolben mit Harz sowie in ein leeres Exemplar zugegeben und 30 Min. am Orbitalschüttler geschüttelt.
- Maßkolben werden auf 10 mL mit MeCN aufgefüllt sowie entweder manuell oder mithilfe eines Ultraschallbads gut geschüttelt.
- 2 mL der jeweiligen Lösung werden in einen 25 mL Maßkolben überführt und ebenfalls mit MeCN auf 25 mL aufgefüllt.
- Die Proben werden gut geschüttelt und kurz stehen gelassen, damit sich etwaige Harzkügelchen am Boden absetzen können.
- Die Quarzküvetten werden mit der jeweiligen Lösung befüllt.
- Das UV/VIS-Spektrophotometer wird auf die Wellenlänge 304 nm sowie drei Messzyklen zu je 5 Messungen alle 30 s eingestellt und Auto-Zero durchgeführt.
- Die Probe ohne Harzkügelchen wird in den Strahlungsgang gestellt und der Blindwert gemessen.
- Danach folgt die Messung der eigentlichen Probe, wobei die Software automatisch den Blindwert abzieht und den Mittelwert pro Zyklus errechnet.
- Die erhaltene Absorption wird notiert und mithilfe der unten stehenden Formel die Beladung des Harzes berechnet:

$$B \left[ \frac{\text{mmol}}{\text{g}} \right] = \frac{Abs_{304\text{nm}} \cdot 16,4}{m_{\text{resin}}[\text{mg}]} \quad (\text{Gl. 6})$$

### 6.9. Allgemeine Arbeitsvorschrift :TNBS-Test auf freie Amino-Gruppen

- Lösung 1 (10% DIPEA in DMF) wird angesetzt.
- Lösung 2 (1 M TNBS in H<sub>2</sub>O) wird angesetzt.
- Einige Harzkügelchen werden in eine kleine Kunststoff-Spritze mit Frittenboden gegeben und mit 1 bis 3 Tropfen der beiden Lösungen überschichtet.
- Nach 10 Minuten werden die Harzkügelchen mit einigen Tropfen DMF gewaschen und unter einer Lupe oder einem Mikroskop inspiziert.

- Eine rote Verfärbung deutet auf freie Amino-Gruppen und damit eine unvollständige Kupplungsreaktion mit *N*-terminal geschützten Aminosäuren hin.
- Farblose oder gleichbleibende Farbe der Harzkügelchen steht für einen vollständigen Umsatz.



Sch. 6-1 Reaktion des TNBS mit einer freien Aminogruppe.

## 6.10. Ultraschall

Das Ultraschallbad Sonorex der Firma Bandelin electronic wurde benutzt um Proben für die UV/VIS-Spektroskopie sowie Reaktionsmischungen bei der Herstellung von  $\beta$ -Aminosäuren zu homogenisieren.

## 6.11. Vortex

Um das manuelle Schütteln von Ansätzen in Eppendorf-Schnappgefäßen zu erleichtern, wurde ein Vortex 3 der Firma IKA verwendet.

## 6.12. Zentrifugation

Vom SPPS-Harz abgespaltene und in  $\text{Et}_2\text{O}$  gefällte Peptide wurden mit der Zentrifuge Rotanta 460 der Firma Hettich abgetrennt. Außerdem wurden mithilfe spezieller Einsätze NMR-Proben homogenisiert.

## 6.13. Gefriertrocknung

Die in  $\text{Et}_2\text{O}$  gefällten Peptide wurden nach dem Abtrennen mit der Zentrifuge in  $\text{VE-H}_2\text{O}$  aufgenommen, in flüssigem  $\text{N}_2$  eingefroren und an der Lyophile ALPHA 2-4 LDplus der Firma Martin Christ gefriergetrocknet. Ebenso wurden mittels RP-HPLC abgetrennte Fraktionen behandelt.

---

#### 6.14. Schütteln

Empfindliche Proben oder ungewöhnliche Gefäße mit Reaktionsmischungen wie zum Beispiel Kunststoffspritzen für die Festphasenpeptidsynthese wurden mithilfe eines Orbitalschüttlers der Firma VWR in Bewegung gehalten, sodass eine Durchmischung schnell eintreten konnte.

#### 6.15. Schutzgas

Die Inertisierung von Reaktionen erfolgte mittels Argon der Qualität 5.0. Für die Peptidsynthesen am automatisierten Peptidsynthesizer wurde Stickstoff der Qualität 5.0 als Betriebsmittel und Schutzgas verwendet.

#### 6.16. Rotationsverdampfer

Leicht flüchtige Lösemittel wurden mithilfe von Rotationsverdampfern der Firmen Büchi Labortechnik und IKA entfernt, wobei Pumpen der Firma Vacuubrand für den nötigen Unterdruck sorgten.

#### 6.17. Automatisierte Peptidsynthese

Die in der vorliegenden Arbeit präsentierten Peptide sind in der Festphasenpeptidsynthese sowohl manuell als auch mithilfe des mikrowellengestützten Peptidsynthesizers Liberty der Firma CEM hergestellt worden. Der Reaktionsfortschritt wurde über die Detektion des Dibenzofulvenaddukts im Abfallstrom mittels eines UV-Monitors beobachtet.

#### 6.18. Lösemittel

Alle im Folgenden genannten Lösemittel sind bei den Firmen Sigma Aldrich, Merck Millipore, VWR International, Carl-Roth, IRIS-Biotech und Fisher Scientific in der Qualität "extra trocken, über 4 Å Molekularsieb" erworben worden. Dazu zählen DMF, NMP, DCM, Toluol, Benzol, THF, Et<sub>2</sub>O, CHCl<sub>3</sub>, MeOH, EtOH, Dioxan, EE, PE, TFE, Hexan sowie MeCN. Diejenigen Lösemittel, die kein Molekularsieb zur Langzeitlagerung in den Flaschen enthalten hatten, wurden vor Benutzung über einem passenden Trockenmittel destilliert. Zusätzlich wurde dem für die Peptidsynthese verwendeten DMF ein Ionentauscherharz, Dowex® 50WX8, zugesetzt, um die Bildung der Verunreinigung Dimethylamin zu unterdrücken.

Das deionisierte, reine Wasser für die HPLC wurde mittels eines Kartuschen-Systems der Firma Merck Millipore erzeugt. Für tägliche Laboranwendung wurde das deionisierte Wasser aus der Hausleitung, die an ein Wasserentsalzungssystem angeschlossen ist, entnommen.

Deuterierte NMR-Lösemittel wurden von der Firma Sigma Aldrich bezogen.

---

## 6.19. Reagenzien

Die Kupplungsreagenzien für die Peptidsynthese, HBTU, HOBT, HATU, HOAT, PyBOP, PyClock sowie Oxyma, wurden bei den Firmen Carbolution Chemicals, ORPEGEN Peptide Chemicals, IRIS-Biotech, Sigma Aldrich und Merck Millipore in einer Reinheit von mehr als 97.0% erworben.

Die gemäß der Sheppard-Taktik geschützten L- $\alpha$ -Aminosäuren wurden von den Firmen ORPEGEN Peptide Chemicals sowie IRIS-Biotech bezogen.

Die geschützten L- $\beta^3$ -Homoaminosäuren sowie die rigide  $\beta$ -Aminosäure 2-Amino-cyclohexancarbonsäure (ACHC) wurden zu Beginn von den Firmen Peptech Corporation und PolyPeptide beschafft, um erste Synthesen durchführen zu können und Analyse-Muster für die Qualitätskontrolle eigener Erzeugnisse zu haben. Später wurden alle Aminosäuren selbst synthetisiert.

Die Fmoc-geschützte  $\gamma$ -Aminosäure 3-Aminoadamantan-1-carbonsäure (Ada<sup>Gly</sup>) wurde von R. C. WENDE aus dem AK SCHREINER zur Verfügung gestellt.

Der Vorläufer für Diazomethan, Diazald®, wurde zunächst bei der Firma Sigma Aldrich erworben und anschließend selbst nach einer Literaturvorschrift hergestellt.<sup>[312]</sup>

Diazomethan wurde selbst aus Diazald®, *N*-Methyl-*N*-nitroso-*p*-toluolsulfonamid, in einer dafür vorgesehenen Glasapparatur ohne Schliffe generiert und sofort umgesetzt. Die verwendete Prozedur findet Anlehnung an eine Literaturvorschrift.<sup>[313]</sup>

TFA, AcOH, DIPEA, TIS, Thioanisol, wurden bei den Firmen Sigma Aldrich sowie Fisher Scientific in einer Reinheit von mehr als 99.5% erworben.

Salze für Puffer und Waschlösungen wurden von der Firma Grüssing in Laborqualität bezogen.

Alle anderen nicht näher spezifizierten Reagenzien wurden von den Firmen Sigma Aldrich und Fisher Scientific in der höchsten, kommerziell erhältlichen Reinheit bezogen.

## 6.20. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Harzbeladung 2CTC-Harz manuell

- 2CTC-Harz wird in Spritze mit Frittenboden oder Schlenk-Fritte eingewogen.
- Äquivalent wird ausgerechnet  $1 \text{ eq} = \text{Harzbeladung} \cdot \text{Harzmenge}$ .
- 1.2 eq Aminosäure (AA) in 10 mL/g<sub>Harz</sub> DCM werden suspendiert/gelöst.
- 4.8 eq Diisopropylethylamin (DIPEA) werden zur Suspension/Lösung gegeben und gerührt.
- DMF wird zur Suspension mit Pasteurpipette zugesetzt, bis AA sich gelöst hat.
- Reaktionslösung wird in Spritze mit Harz aufgezogen oder auf eine offene Schlenk-Fritte mit N<sub>2</sub>-Gegenstrom gegossen.
- Spritze wird 2 h geschüttelt am Orbitalschüttler; N<sub>2</sub> durch die Lösung auf der Schlenk-Fritte geblubbert.
- Für höhere Beladungsdichte mit AA Reaktion wird über Nacht laufen gelassen, 2-4 eq AA in DMF angesetzt mit 4-facher Stoffmenge DIPEA bezogen auf AA.



- Nach Reaktion wird Lösung verworfen und mit Capping-Lösung DCM/MeOH/DIPEA (17:2:1) 3 Mal (10 mL/g<sub>Harz</sub>) zu 10 Min geschüttelt.
- Harz wird nach durchgeführtem Capping gewaschen (10 mL/g<sub>Harz</sub>) zu je 10 Min: 3 Mal DCM, 2 Mal DMF, 2 Mal DCM und 3 Mal MeOH.
- Harz wird unter Vakuum getrocknet bis zur Gewichtskonstanz, so dass es gut rieselfähig ist.
- Bei Verklumpen wird Waschung mit MeOH wiederholt.
- Beladungsbestimmung nach allgemeinen Arbeitsvorschriften in 6.8 wird durchgeführt.

#### 6.21. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Harzbeladung 2CTC-Harz automatisiert im Peptidsynthesizer Liberty

- 2CTC-Harz wird in Zentrifugen-Kunststoff-Gefäß so eingewogen, dass entsprechend der Grundbeladung 5 mmol nicht überschritten werden: 1 eq/Grundbeladung = Harzmenge  
 ➔ 1 eq: 0.05 mmol, 0.1 mmol, 0.25 mmol, 0.5 mmol, 1 mmol, 2 mmol, 3 mmol, 4 mmol, 5 mmol.
- Reaktionsgefäß passender Größe wird gewählt; ab 0.5 mmol ist "Large-Vessel" nötig.
- Harz im Gefäß wird angeschraubt an Anschlussstelle.
- AA wird angesetzt in DMF 0.2 bis 0.4 M, je nach Löslichkeit.
- DIPEA wird angesetzt 2 M in NMP.
- Capping wird angesetzt DIPEA/MeOH/DCM (5:15:80).
- Reagenzienmenge wird eingestellt: 5 eq AA, 12.5 eq DIPEA.
- Kupplungszyklus wird programmiert: 2 Mal 30 Min zu 50°C; 3 Mal Waschen DMF (Top-Bottom-Top, 10 mL/g<sub>Harz</sub>).
- Capping wird in Kupplungszyklus nach Waschen durchgeführt: 2 Mal 10 Min (10 mL/g<sub>Harz</sub>) bei Raumtemperatur.
- Waschen nach Capping: 3 Mal Waschen DMF (Top-Bottom-Top, 10 mL/g<sub>Harz</sub>).
- Harz wird im Reaktor belassen, da bei einmaligem, automatischem Rücktransport viel in Schläuchen bleibt und später im Müll landet.
- Harz wird entweder manuell aus Reaktor geholt oder über "Maintenance"-Menü in mehrere Kunststoffgefäße zurückgespült (meistens reichen 4 Stück).
- beladenes Harz wird 3 Mal mit MeOH auf einer Fritte gewaschen.
- Harz wird unter Vakuum getrocknet bis zur Gewichtskonstanz, so dass es gut rieselfähig ist.
- Bei Verklumpen wird Waschung mit MeOH wiederholt.
- Beladungsbestimmung nach allgemeinen Arbeitsvorschriften in 6.8 wird durchgeführt.

---

## **6.22. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Harzbeladung Rink-Amid-AM-(PEG)-Harz manuell/automatisiert**

Um Peptide mit einer Amid-Funktion am C-Terminus zu erhalten muss ein Harz mit dem entsprechenden Linker für die Festphasenpeptidsynthese verwendet werden. Der Rink-Amid-Linker ist sehr gut für diesen Zweck geeignet und wird meistens in Kombination mit stark quellenden, PEG-basierten Kunststoffharzen genutzt. Da die funktionelle Amino-Gruppe, an die die erste Aminosäure über eine aktivierte Carboxyl-Gruppe gebunden wird, mit einer Fmoc-Schutz-gruppe ausgestattet ist, läuft die Harzbeladung sowohl manuell als auch automatisiert wie ein normaler Kupplungs-Zyklus ab, der mit der Abspaltung der Fmoc-Gruppe mittels Piperidin oder DBU beginnt.

## **6.23. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Automatisierte Peptidsynthese am Fmoc-Rink-Amid-AM-Harz**

Ansätze kleiner als 1 mmol sind nicht sinnvoll, da das erhaltene Rohpeptid trotz optimaler Bedingungen an der HPLC aufgereinigt werden muss.

- Large Scale Kalibrierung im Menü "Maintenance" wird durchgeführt; bei AA-Zugabe werden immer noch ca. 10-20% mehr Lösung verbraucht.
- Harz in Zentrifugen-Kunststoff-Gefäß wird eingewogen.
- HBTU/HOBT 0.5 M in DMF werden angesetzt.
- DIPEA 2 M in NMP werden angesetzt.
- AA 0.2 M in DMF werden angesetzt, bei  $\beta$ -AA werden 20% DMSO zugegeben.
- Entschützungs-Lösung für Fmoc-Schutzgruppe 20% Piperidin in DMF wird angesetzt.
- Liberty wird programmiert:
  - 3 eq AA zwei Mal – "Double Couple".
  - 3 eq HBTU/HOBT.
  - 6 eq DIPEA.
  - Eventuell nach jedem "Double Couple" Capping einbauen.
  - Kupplung: Power Cycle – 35 Watt – 75-80°C – 180 s heat/180 s cool – 12 Mal.
  - Entschützen: Initial – 35 Watt – 75°C – 30 s; Main – 35 Watt – 75°C – 180 s.
  - Kein automatischer Harzrücktransport.
- Endcapping wird manuell durchgeführt bei Raumtemperatur über mindestens 1 h – Vorteil der Funktionalisierung mit Anhydriden: Anhydrid/DIPEA/DCM (10:1:89).
- Peptidabspaltung mit TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95:2.5:2.5) erfolgt bei Raumtemperatur maximal 1 h; mit TFA wird Harz nachgewaschen.
- Alternative Peptidabspaltung mit TFA/1,3-Dimethoxybenzol/DCM (20:3-5:77-75) bei Raumtemperatur 15 Min; mit DCM wird Harz nachgewaschen.
- Peptid wird in 10-fachem Volumen Et<sub>2</sub>O gefällt, getrocknet, in VE-H<sub>2</sub>O/MeCN gelöst und lyophilisiert.
- Hydrophobes Peptid: Ether wird abrotiert, Rückstand in Eisessig aufgenommen, mit DCM gewaschen, Phasen getrennt und Essigphase lyophilisiert.
- Rohpeptid wird an HPLC analytisch untersucht und bei Bedarf präparativ aufgereinigt.
- Peptid wird über MS ESI charakterisiert.

#### 6.24. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Automatisierte Peptidsynthese am 2CTC-Harz

- Harz wird gemäß den allgemeinen Arbeitsvorschriften 6.20/6.21 manuell oder automatisch mit erster AA vorbeladen.
- Harz wird in Zentrifugen-Kunststoff-Gefäß eingewogen.
- HBTU/HOBT 0.5 M in DMF werden angesetzt.
- DIPEA 2 M in NMP werden angesetzt.
- AA 0.2 M in DMF werden angesetzt, bei  $\beta$ -AA werden 20% DMSO zugegeben.
- Entschützungslösung für Fmoc-Schutzgruppe 20% Piperidin in DMF wird angesetzt.
- Liberty wird programmiert:
  - 3 eq AA zwei Mal – "Double Couple".
  - 3 eq HBTU/HOBT.
  - 6 eq DIPEA.
  - eventuell nach jedem "Double Couple" Capping einbauen.
  - Kupplung: Power Cycle – 30 Watt – 45-50°C – 180 s heat/180 s cool – 12 Mal.
  - Entschützen: Initial – 30 Watt – 50°C – 30 s; Main – 30 Watt – 50°C – 180 s.
  - Kein automatischer Harzrücktransport.
- Endcapping wird manuell durchgeführt bei Raumtemperatur über mindestens 1 h – Vorteil der Funktionalisierung mit Anhydriden: Anhydrid/DIPEA/DCM (10:1:89).
- Peptidabspaltung mit TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95:2.5:2.5) erfolgt bei Raumtemperatur maximal 1 Stunde; Harz wird mit TFA gewaschen.
- Peptid wird in 10-fachem Volumen Et<sub>2</sub>O gefällt, getrocknet, in VE-H<sub>2</sub>O/MeCN gelöst und lyophilisiert.
- Hydrophobes Peptid: Ether wird abrotiert, Rückstand in Eisessig aufgenommen, mit DCM gewaschen, Phasen getrennt und Essigphase lyophilisiert.
- Rohpeptid wird an HPLC analytisch untersucht und bei Bedarf präparativ aufgereinigt.
- Peptid wird über MS ESI charakterisiert.

#### 6.25. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Manuelle Peptidsynthese am Fmoc-Rink-Amid-AM-Harz

- Harz wird in Kunststoff-Spritze mit Frittenboden eingewogen.
- Es wird 30 Min. in DMF (10 ml/g<sub>Harz</sub>) quellen gelassen.
- Fmoc-Schutzgruppe wird mit 20% Piperidin in DMF (8 mL/g<sub>Harz</sub>) zwei Mal entfernt; erst 5 Min. dann 15 Min.
- Entschütztes Harz wird gewaschen: 5 Mal DCM:DMF 1:1, sowie 3 Mal DMF (10 ml/g<sub>Harz</sub>).
- HBTU/HOBT 5 eq werden in kleinstmöglichem Volumen DMF zugegeben.
- DIPEA 10 eq werden hinzugefügt.
- AA 5 eq in kleinstmöglichem Volumen DMF werden zugesetzt, bei  $\beta$ -AA werden 20% DMSO zugegeben.
- Kunststoff-Spritze wird 45 Min. bis 2 h schütteln gelassen bei Raumtemperatur.
- Lösung wird verworfen und Harz gewaschen mit 3 Mal DMF (10 ml/g<sub>Harz</sub>).
- HBTU/HOBT 5 eq werden in kleinstmöglichem Volumen DMF zugegeben.
- DIPEA 10 eq werden hinzugefügt.
- AA 5 eq in kleinstmöglichem Volumen DMF werden zugesetzt, bei  $\beta$ -AA werden 20% DMSO zugegeben.
- Kunststoff-Spritze wird 45 Min. bis 2 h schütteln gelassen bei Raumtemperatur.

- Lösung wird verworfen und Harz gewaschen 3 Mal DCM, 2 Mal DMF, 2 Mal DCM.
- TNBS-Test wird bei kleiner Harzprobe nach allgemeiner Arbeitsvorschrift 6.9 durchgeführt; negativ: Zyklus mit nächster AA wird fortgesetzt bei Fmoc-Abspaltung; positiv: Kupplung mit aktueller AA wird wiederholt.
- Finale Fmoc-Schutzgruppe wie beschrieben entfernt und Harz 5 Mal mit DMF, DCM, MeOH gewaschen.
- Bei Bedarf wird Endcapping durchgeführt; Anhydrid/DIPEA/DCM (10:1:89), 1 h, (10 ml/g<sub>Harz</sub>) danach wie oben beschrieben gewaschen.
- Peptidabspaltung mit TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95:2.5:2.5) wird bei Raumtemperatur maximal 1 h durchgeführt, Harz wird mit TFA gewaschen.
- Peptid wird in 10-fachem Volumen Et<sub>2</sub>O gefällt, getrocknet, in VE-H<sub>2</sub>O/MeCN gelöst und lyophilisiert.
- Hydrophobes Peptid: Ether wird abrotiert, Rückstand in Eisessig aufgenommen, mit DCM gewaschen, Phasen getrennt und Essigphase lyophilisiert.
- Rohpeptid wird an HPLC analytisch untersucht und bei Bedarf präparativ aufgereinigt.
- Peptid wird über MS ESI charakterisiert.

## 6.26. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Manuelle Peptidsynthese am 2CTC-Harz

- Harz wird gemäß den allgemeinen Arbeitsvorschriften 6.20/6.21 manuell oder automatisch mit erster AA vorbeladen.
- Harz wird in Kunststoff-Spritze mit Frittenboden eingewogen.
- Es wird 30 Min. in DMF (10 ml/g<sub>Harz</sub>) quellen gelassen.
- Fmoc-Schutzgruppe wird mit 20% Piperidin in DMF (8 mL/g<sub>Harz</sub>) zwei Mal entfernt; erst 5 Min. dann 15 Min.
- Entschütztes Harz wird gewaschen: 5 Mal DCM:DMF 1:1, sowie 3 Mal DMF (10 ml/g<sub>Harz</sub>).
- HBTU/HOBT 5 eq werden in kleinstmöglichem Volumen DMF zugeben.
- DIPEA 10 eq werden hinzugefügt.
- AA 5 eq werden in kleinstmöglichem Volumen DMF zugesetzt, bei β-AA werden 20% DMSO zugegeben.
- Kunststoff-Spritze wird 45 Min. bis 2 h schütteln gelassen bei Raumtemperatur.
- Lösung wird verworfen und Harz gewaschen mit 3 Mal DMF (10 ml/g<sub>Harz</sub>).
- HBTU/HOBT 5 eq werden in kleinstmöglichem Volumen DMF zugegeben.
- DIPEA 10 eq werden hinzugefügt.
- AA 5 eq werden in kleinstmöglichem Volumen DMF zugesetzt, bei β-AA werden 20% DMSO zugegeben.
- Kunststoff-Spritze wird 45 Min. bis 2 h schütteln gelassen bei Raumtemperatur.
- Lösung wird verworfen und Harz gewaschen 3 Mal DCM, 2 Mal DMF, 2 Mal DCM.
- TNBS-Test wird bei kleiner Harzprobe nach allgemeiner Arbeitsvorschrift 6.9 durchgeführt; negativ: Zyklus mit nächster AA wird fortgesetzt bei Fmoc-Abspaltung; positiv: Kupplung aktueller AA wird wiederholt.
- Finale Fmoc-Schutzgruppe wird wie beschrieben entfernt und Harz 5 Mal mit DMF, DCM, MeOH gewaschen.
- Bei Bedarf wird Endcapping durchgeführt; Anhydrid/DIPEA/DCM (10:1:89), 1 h, (10 ml/g<sub>Harz</sub>) danach wie oben beschrieben gewaschen.
- Peptidabspaltung mit TFA/H<sub>2</sub>O/TIS (95:2.5:2.5) wird bei Raumtemperatur maximal 1 h durchgeführt, Harz wird mit TFA gewaschen.

- 
- Peptid wird in 10-fachem Volumen Et<sub>2</sub>O gefällt, getrocknet, in VE-H<sub>2</sub>O/MeCN gelöst und lyophilisiert.
  - Hydrophobes Peptid: Ether wird abrotiert, Rückstand in Eisessig aufgenommen, mit DCM gewaschen, Phasen getrennt und Essigphase lyophilisiert.
  - Rohpeptid wird an HPLC analytisch untersucht und bei Bedarf präparativ aufgereinigt.
  - Peptid wird über MS ESI charakterisieren.

## 6.27. Synthese des $\beta$ -Peptids 66: 6- $\beta^3$ hY-[ACHC-ACHC- $\beta^3$ hK]<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub>

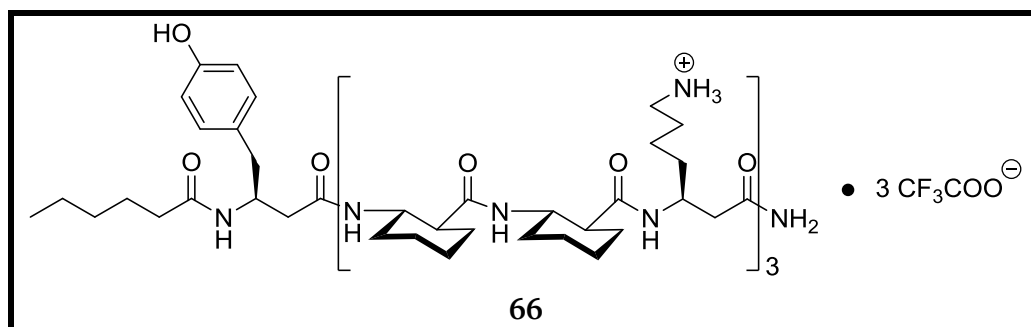


Abb. 6-1  $\beta$ -Peptid 60, 6- $\beta^3$ hY-[ACHC-ACHC- $\beta^3$ hK]<sub>3</sub>-NH<sub>2</sub>.

Das  $\beta$ -Peptid **66** wird gemäß den allgemeinen Arbeitsvorschriften **6.23** und **6.25** hergestellt, wobei einige besondere Optimierungen in der Synthese (vgl. **Tab. 4-5**) erprobt worden sind.

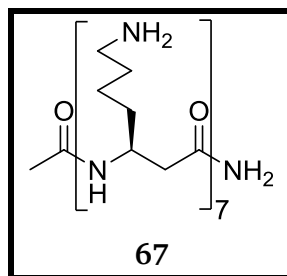
**MS-ESI:**  $m/z = 1470.1$   $[M+H]^+$ ,  $1345.1$   $[M-ACHC+H]^+$ ,  $1293.1$   $[M-\beta^3hY+H]^+$ ,  $1220.0$   $[M-2ACHC+H]^+$ ,  $1168.0$   $[M-ACHC-\beta^3hY+H]^+$ .

Das erhaltene Rohpeptid wird an der HPLC präparativ aufgereinigt, bis nur noch der gesuchte  $[M+H]^+$ -Peak nachweisbar ist.

**RP-HPLC:** 47.6-48.8% MeCN.

**Ausbeute:** 5-25% Rohpeptid

## 6.28. Synthese des $\beta$ -Peptids 67: $\text{Ac}-[\beta^3\text{hK}]_7\text{-NH}_2$



**Abb. 6-2**  $\beta$ -Peptid 67,  $\text{Ac}-[\beta^3\text{hK}]_7\text{-NH}_2$ .

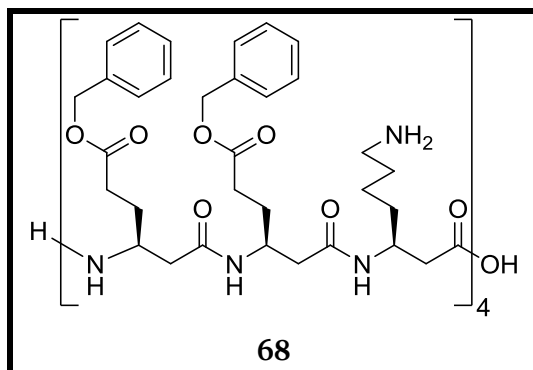
Das  $\beta$ -Peptid 67 wird gemäß den allgemeinen Arbeitsvorschriften 6.23 und 6.25 hergestellt.

**MS-ESI:**  $m/z = 1206.8 [\text{M}+\text{K}+\text{TFA}]^+$ ,  $1092.8 [\text{M}+\text{K}]^+$ ,  $1076.7 [\text{M}+\text{Na}]^+$ ,  $1054.9 [\text{M}+\text{H}]^+$ .

**RP-HPLC:** 47.8-49% MeCN.

**Ausbeute:** 248% Rohpeptid stark hygroskopisch, 52.4% Produktausbeute (HPLC).

## 6.29. Synthese des $\beta$ -Peptids **68**: $\text{H}-[\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})-\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})-\beta^3\text{hK}]_4-\text{OH}$



**Abb. 6-3**  $\beta$ -Peptid **68**,  $\text{H}-[\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})-\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})-\beta^3\text{hK}]_4-\text{OH}$ .

Das  $\beta$ -Peptid **68** wird gemäß den allgemeinen Arbeitsvorschriften **6.24** und **6.26** hergestellt, mit der Besonderheit, dass HATU/HOAT als Aktivierungsreagenzien verwendet werden.

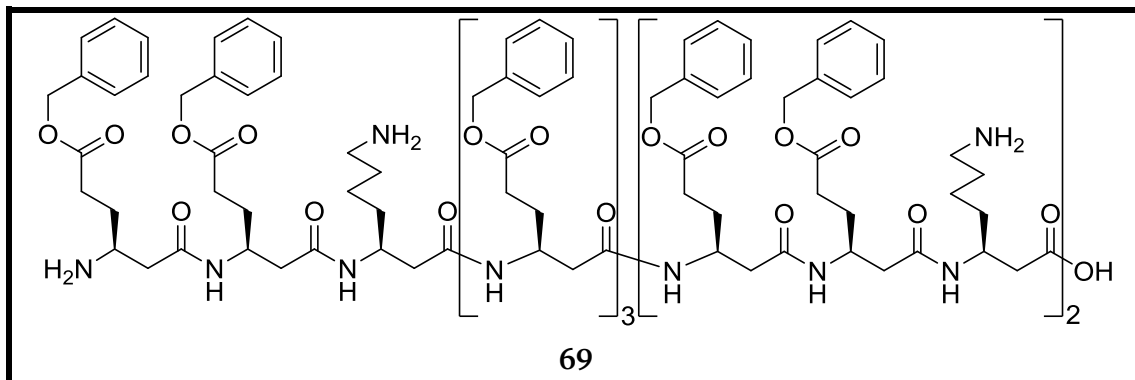
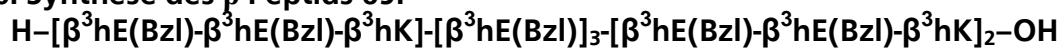
**MS-ESI:**  $m/z = 1227.2 [2\text{M}+\text{H}]^{2+}$ ,  $1127.7 [\text{Nebenprodukt } 1]^+$ ,  $894.6 [\text{Nebenprodukt } 2]^+$ ,  $519.4 [\text{Nebenprodukt } 3]^+$ .

**RP-HPLC:** 60.4-62.4% MeCN.

**Ausbeute:** 23.6-25.8% Rohpeptid.



### 6.30. Synthese des $\beta$ -Peptids 69:



**Abb. 6-4**  $\beta$ -Peptid **69**,  $\text{H}-[\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})-\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})-\beta^3\text{hK}]-[\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})]_3-[\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})-\beta^3\text{hE}(\text{Bzl})-\beta^3\text{hK}]_2-\text{OH}$ .

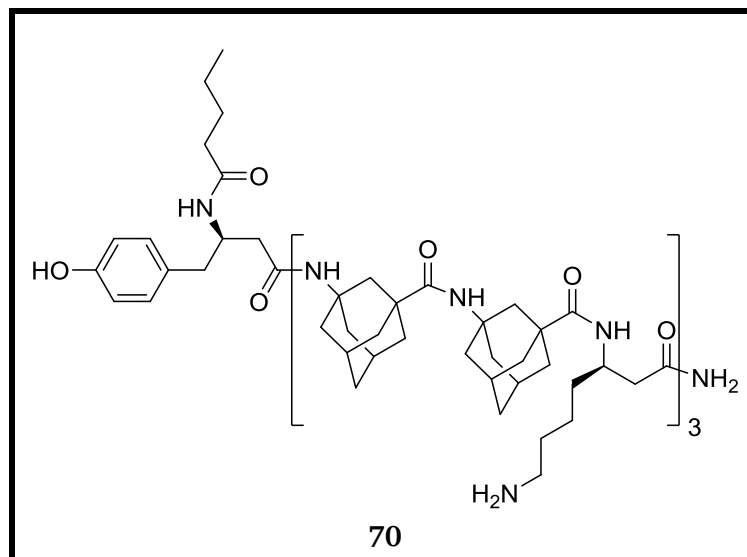
Das  $\beta$ -Peptid **69** wird gemäß den allgemeinen Arbeitsvorschriften **6.24** und **6.26** hergestellt, mit der Besonderheit, dass HATU/HOAT als Aktivierungsreagenzien verwendet werden.

**MS-ESI:**  $m/z = 1272.8$   $[2M+H]^{2+}$ ,  $1127.8$  [Nebenprodukt 1] $^{+}$ ,  $894.7$  [Nebenprodukt 2] $^{+}$ ,  $519.6$  [Nebenprodukt 3] $^{+}$ .

**RP-HPLC:** 60.4-62.4% MeCN.

**Ausbeute:** 27.2% Rohpeptid.

### 6.31. Synthese des $\beta$ - $\gamma$ -Peptids **70**: $6\text{-}\beta^3\text{hY}\text{-}[\text{Ada}^{\text{Gly}}\text{-Ada}^{\text{Gly}}\text{-}\beta^3\text{hK}]_3\text{-NH}_2$



**Abb. 6-5**  $\beta$ - $\gamma$ -Peptid **70**,  $6\text{-}\beta^3\text{hY}\text{-}[\text{Ada}^{\text{Gly}}\text{-Ada}^{\text{Gly}}\text{-}\beta^3\text{hK}]_3\text{-NH}_2$ .

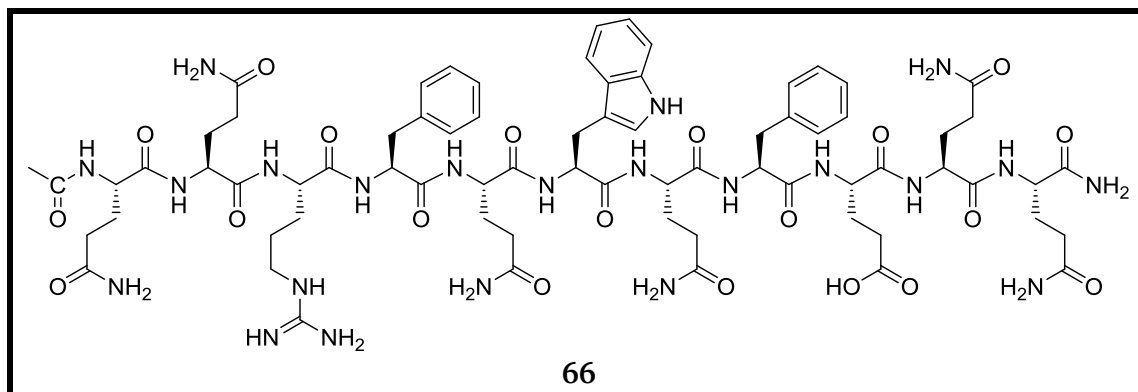
Das  $\beta$ - $\gamma$ -Peptid **70** wird gemäß den allgemeinen Arbeitsvorschriften **6.23** und **6.25** hergestellt.

**MS-ESI:**  $m/z = 1463.1$   $[\text{M-Ada}^{\text{Gly}}\text{-}\beta^3\text{hK}+\text{H}]^+$ ,  $1320.9$   $[\text{M-Ada}^{\text{Gly}}\text{-}2\beta^3\text{hK}+\text{H}]^+$ ,  $1143.9$   $[\text{M-}2\text{Ada}^{\text{Gly}}\text{-}2\beta^3\text{hK}+\text{H}]^+$ ,  $966.7$   $[\text{M-}3\text{Ada}^{\text{Gly}}\text{-}2\beta^3\text{hK}+\text{H}]^+$ .

**RP-HPLC:** Kein Produktpeak.

**Ausbeute:** 26.3% Rohpeptid.

### 6.32. Synthese des $\beta$ -Strukturbildners 72, P<sub>11</sub>-II: Ac-Q-Q-R-F-Q-W-Q-F-E-Q-Q-NH<sub>2</sub>



**Abb. 6-6**  $\beta$ -Strukturbildner 72, P<sub>11</sub>-II: Ac-Q-Q-R-F-Q-W-Q-F-E-Q-Q-NH<sub>2</sub>.

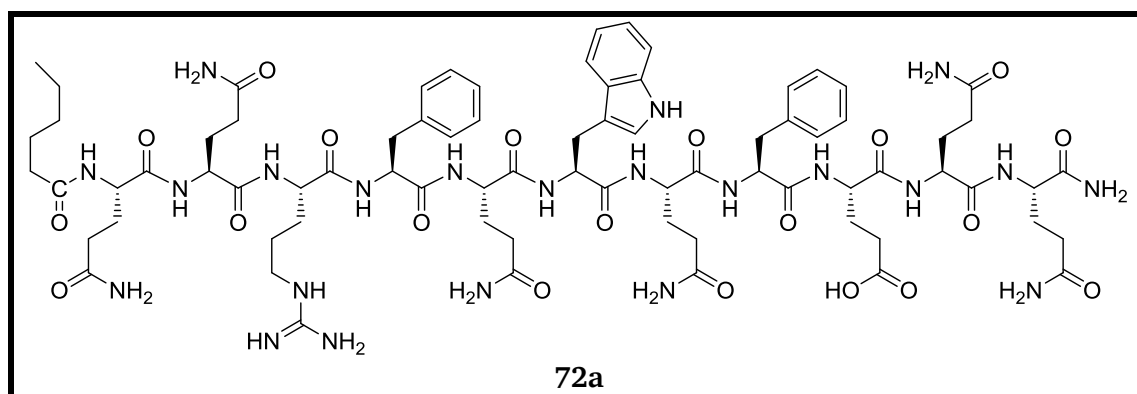
Der  $\beta$ -Strukturbildner 72 wird gemäß den allgemeinen Arbeitsvorschriften 6.23 und 6.25 hergestellt.

**MS-ESI:**  $m/z = 1594.8 [M+H]^+$ ,  $1465.8 [M-E+H]^+$ .

**RP-HPLC:** 37.5-38.8% MeCN.

**Ausbeute:** 33.2-51.8% Rohpeptid.

**6.33. Synthese des modifizierten  $\beta$ -Strukturbildners 72a:**  
 **$C_6H_{11}O_2$ -Q-Q-R-F-Q-W-Q-F-E-Q-Q-NH<sub>2</sub>**



**Abb. 6-7**  $\beta$ -Strukturbildner **72a**, P<sub>11-II/6</sub>:  $C_6H_{11}O_2$ -Q-Q-R-F-Q-W-Q-F-E-Q-Q-NH<sub>2</sub>.

Der  $\beta$ -Strukturbildner **72a** wird gemäß den allgemeinen Arbeitsvorschriften **6.23** und **6.25** hergestellt, wobei das Endcapping mit Hexansäureanhydrid durchgeführt wird.

**MS-ESI:**  $m/z = 1650.9 [M+H]^+$ .

**RP-HPLC:** 36.4-37.6% MeCN.

**Ausbeute:** 45.3% Rohpeptid.

### 6.34. Synthese und Charakterisierung eines Polyprolins aus 70 Aminosäuren

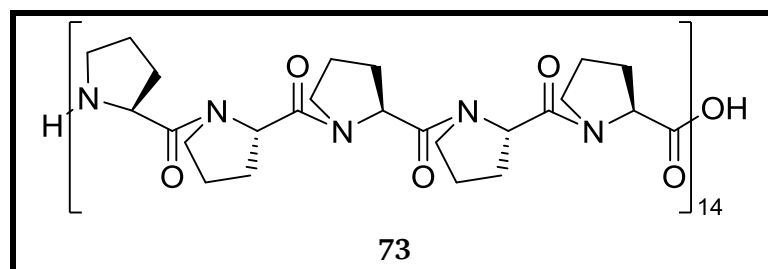


Abb. 6-8 Polyprolin **73**,  $M_w = 6816.26$  Da.

Das Peptid **73** wird gemäß den allgemeinen Arbeitsvorschriften **6.24** und **6.26** hergestellt.

**MS-ESI:** nicht messbar, da schlecht löslich.

**MALDI-TOF:** Massenverteilung 4000 bis 7000 Da; starke Matrixabhängigkeit.

**RP-HPLC:** Probe nicht vollständig gelöst.

**Ausbeute:** 78.3% Rohpeptid.

**CD:** Messung des Überstands der Probenlösung mit gelösten Oligomeren.

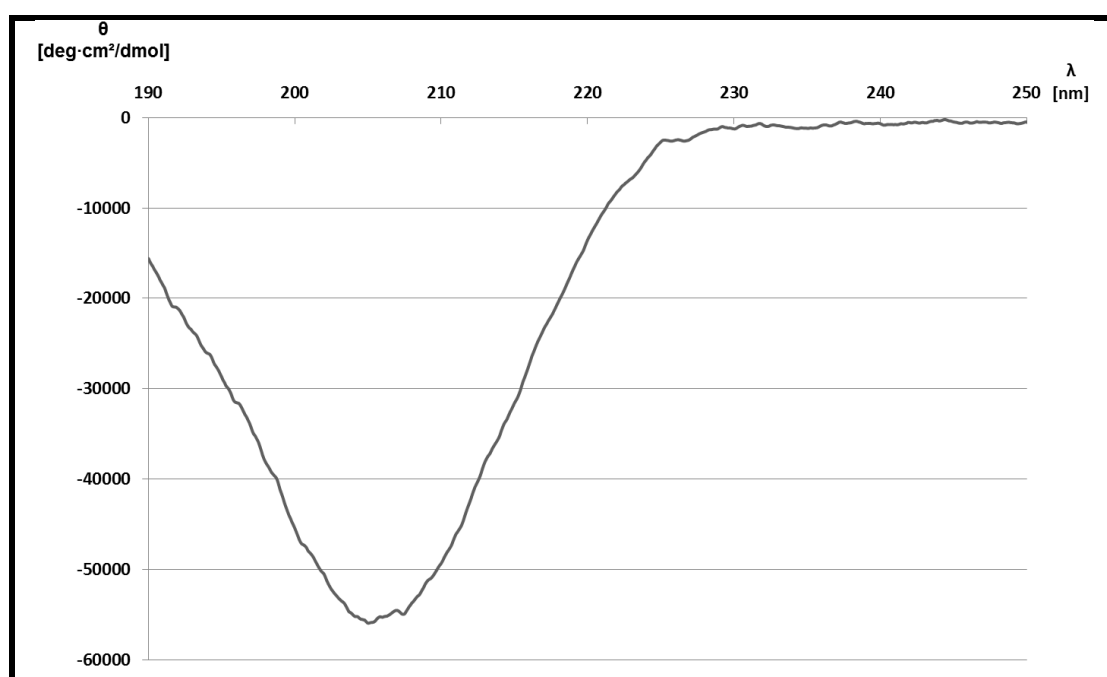
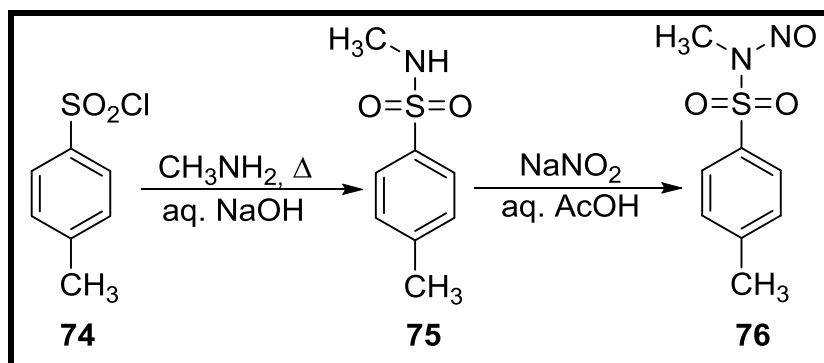


Abb. 6-9 CD-Spektrum des Peptids **73** in  $H_2O$ ,  $c = 2.5$  mg/mL = 0.366 mmol/L.

### 6.35. Synthese von Diazald® 76 – *N*-Methyl-*N*-nitroso-*p*-toluolsulfonamid



Sch. 6-2 Synthese von Diazald® 75, *N*-Methyl-*N*-nitroso-*p*-toluolsulfonamid.

Gemäß der Literatur<sup>[312]</sup> werden 105 mL einer Methylamin-Lösung 33% (vol.) in einem 0.5 L Dreihalskolben mit Rückflusskühler vorgelegt. Unter Rühren werden 90 g (0.472 mol) *p*-Toluolsulfonsäurechlorid innerhalb von 2.5 Min. zugegeben und auf 80-90° C erhitzt (Schmelzpunkt *p*-Toluolsulfonsäurechlorid 78° C). Die Reaktionslösung wird auf ihren pH-Wert überprüft. Sobald die Lösung einen sauren pH-Wert aufweist, werden vorsichtig 25 mL einer 50% NaOH-Lösung zugegeben. Anschließend wird eine weitere Portion *p*-Toluolsulfonsäurechlorid von 45 g (0.236 mol) hinzugefügt. Die Reaktionslösung wird weiterhin auf ihren pH-Wert überprüft. Sobald dieser wieder im sauren Bereich liegt werden 12.5 mL einer 50% NaOH-Lösung vorsichtig zugegeben. In die nun wieder basische Lösung wird eine dritte Portion *p*-Toluolsulfonsäurechlorid von 20 g (0.105 mol) hinzugefügt, woraufhin die Lösung wieder sauer ist. Nach der Zugabe von weiteren 5 mL einer 50% NaOH-Lösung ist die Mischung wieder alkalisch.

Die Reaktionslösung wird bei 100° C Ölbadtemperatur für 15 Min. unter Rühren zum Rückfluss erhitzt. Dabei entstehen zwei Phasen und NaCl fällt als Feststoff aus. In einem 3-L-Mehralskolben mit Tropftrichter, KPG-Rührer sowie zwei nachgeschalteten Waschflaschen, werden 750 mL Eisessig vorgelegt und auf 5°C gekühlt. Die heiße Reaktionslösung wird unter Rühren in den gekühlten Eisessig gegeben. Der Kolben wird mit weiteren 125 mL Eisessig nachgespült. In die auf 5° C gekühlte und mechanisch gerührte Lösung wird innerhalb von 23 Min. eine Lösung aus 62 g (0.899 mol) Natriumnitrit in 125 mL Wasser zugetropft. Die Temperatur der Lösung wird unter 10° C gehalten.

Nach Vollendung der Zugabe der Natriumnitritlösung wird das Reaktionsgemisch weitere 15 Min. mechanisch gerührt. Dabei entstehen gelbe Kristalle. Um nitrose Gase aufzufangen, sind dem Kolben zwei Waschflaschen nachgeschaltet. Waschflasche eins ist leer und Waschflasche zwei ist mit 1-2 M NaOH-Lösung befüllt. Dem Reaktionsgemisch werden 500 mL VE-Wasser zugegeben und anschließend wird das Produkt abfiltriert. Die gelben Kristalle werden mit VE-H<sub>2</sub>O gewaschen, bis die Essigsäure vollständig entfernt ist. Das Produkt wird im Vakuum-Exsikkator über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet.

Das Produkt wird umkristallisiert. Dazu wird das Rohprodukt in siedendem Et<sub>2</sub>O mit der Konzentration 1 g/mL gelöst und mit demselben Volumen an PE über Nacht im Kühlschrank auskristallisiert. Das so erhaltene Reinprodukt wird auf seinen Schmelzpunkt hin untersucht und ein <sup>1</sup>H-NMR-Spektrum gemessen. Das Reinprodukt wird mit den analytischen Daten von Sigma Aldrich verglichen. Es werden 151.72 g (0.708 mol, 87%, Lit.:<sup>[312]</sup> 85-90%) Produkt erhalten.

Smp.: 60° C (Lit. 61-62° C, Sigma Aldrich)

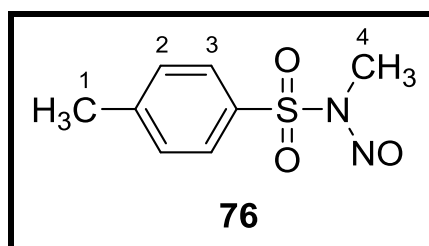
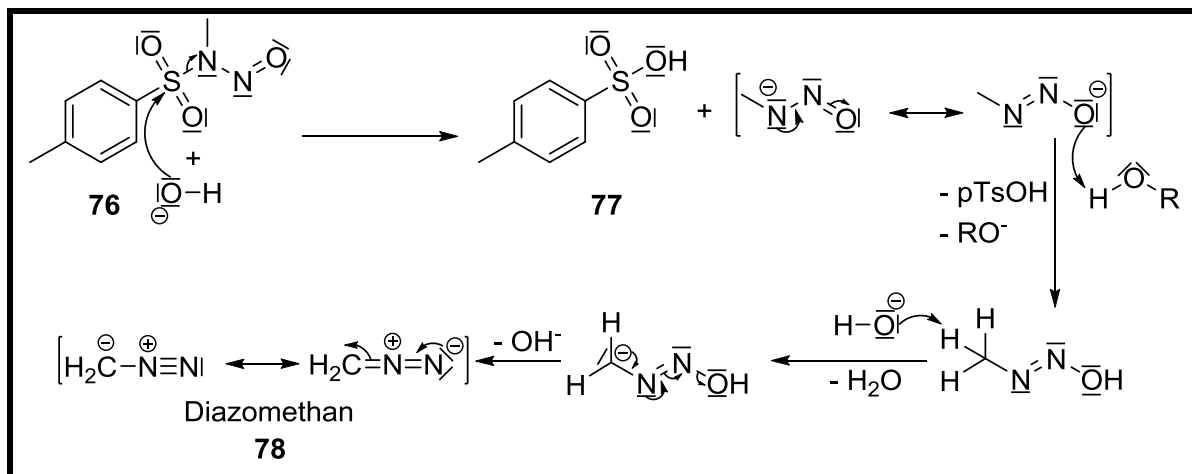


Abb. 6-10 Diazald® 69, *N*-Methyl-*N*-nitroso-*p*-toluolsulfonamid

<sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K):  $\delta$  = 2.46 (s, 1-H<sub>3</sub>), 3.13 (s, 4-H<sub>3</sub>), 7.38 (d, 2-H<sub>2</sub>, 6.3 Hz), 7.88 ppm (d, 3-H<sub>2</sub>, 5.9 Hz).

MS-ESI:  $m/z$  = 215.2 [M+H]<sup>+</sup>.

### 6.36. Synthese von Diazomethan 78



Sch. 6-3 Synthese von Diazomethan 78 aus Diazald® 76.

Diazomethan 78 wird benötigt, um aus  $\alpha$ -Aminosäuren ihre Homologa herzustellen. Die Herstellung und Handhabung erfordert größtmögliche Vorsicht, da das gelbe Gas bereits beim Fließen über raue Oberflächen explodieren kann. Darüber hinaus ist es ein starkes Methylierungs-Reagenz und damit sehr giftig sowie carcinogen. Vorkehrungen zur geeigneten persönlichen Schutzausrüstung sind zu treffen.

Die Synthese von Diazomethan 78 wird in einem gut belüfteten Abzug hinter einem Sprengschild mit einer speziellen Apparatur durchgeführt. Bei der Apparatur handelt es sich um ein Diazald®-Kit der Firma Sigma Aldrich. Diese Destillationsapparatur ist mit flammgeschliffenen Schliffen versehen und wird vor Verwendung auf Kratzer untersucht (vgl. Abb. 6-11).

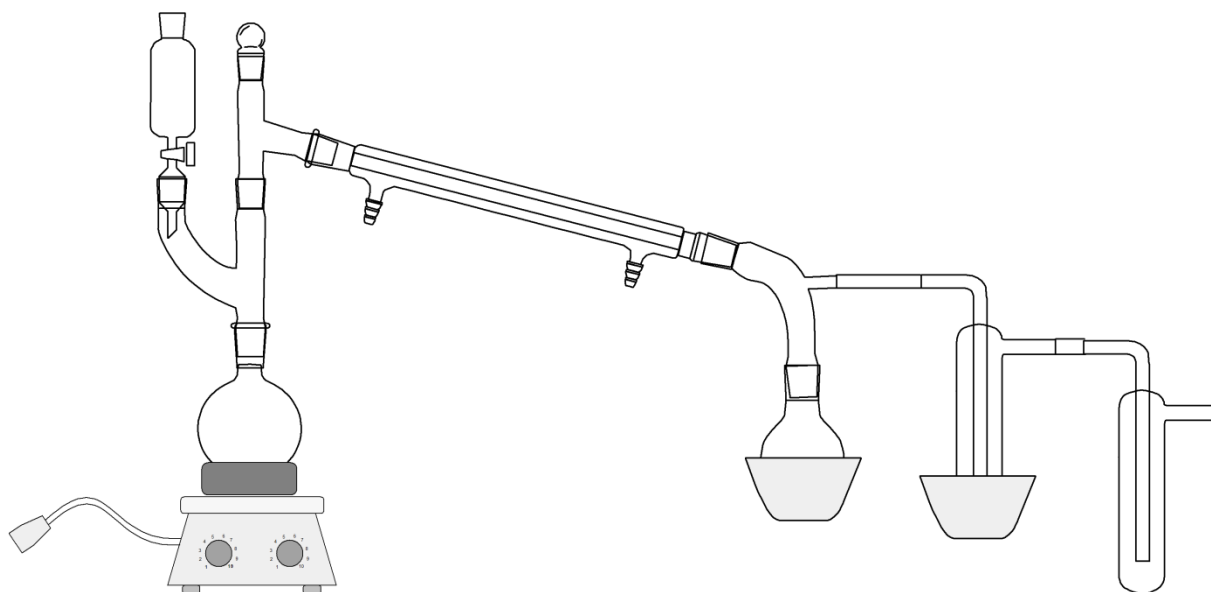


Abb. 6-11 Schema der Destillationsapparatur, Diazald®-Kit, mit flammgeschliffenen Schliffen.

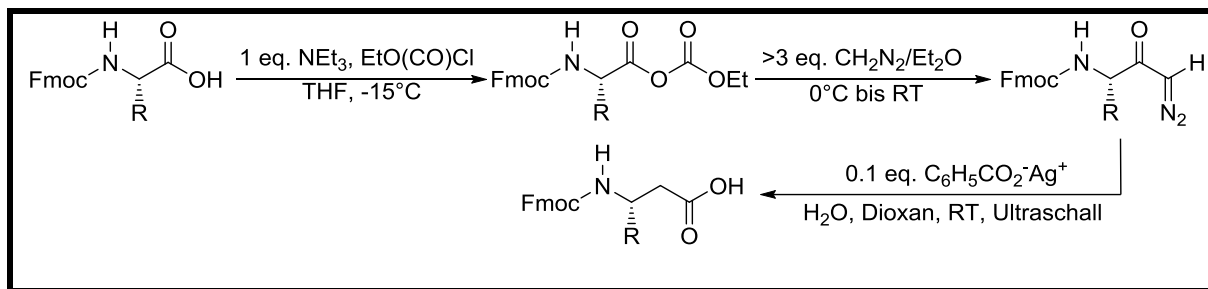


---

Gemäß der Literaturvorschrift zur Herstellung einer etherischen, trockenen Diazomethan-Lösung<sup>[313]</sup> werden in einem 100 mL Vorlagekolben 2.59 g (45.796 mmol) Kaliumhydroxid in 4 mL H<sub>2</sub>O gelöst und 14 mL Carbitol (2-(2-Ethoxy)ethanol) sowie 8 mL Diethylether zugegeben. Das Gemisch wird mit einem Teflonrührfisch gerührt. Im Produktkolben werden ein paar KOH-Plätzchen in Diethylether vorgelegt. An den Produktkolben ist eine Etherfallen-Kaskade angeschlossen. Der Tropftrichter wird mit einer Lösung aus 5 g Diazald® (23.34 mmol) und 45 mL Diethylether bestückt. Das Reaktionsgemisch wird auf 65° C erwärmt, zur gleichen Zeit werden der Produktkolben und die Etherfalle mit Hilfe eines Kühlaggregates oder einer passenden Kühlmischung auf -21° C abgekühlt. Die Lösung aus Diazald® und Diethylether wird unter langsamen Rühren in den Reaktionskolben hinzutropft, wobei die Tropfgeschwindigkeit in etwa der Geschwindigkeit entspricht, in der das gelbe Diazomethan-Ethergemisch in den Produktkolben tropft. Nach vollendeter Zugabe der Diazald®-Lösung werden weitere 10 mL Diethylether über den Tropftrichter eingetropft und die Reaktionslösung weiter destilliert, bis das Kondensat farblos ist. Die entstandene Diazomethan-Lösung wird direkt weiter verarbeitet, um das Explosionsrisiko möglichst gering zu halten. Es entstehen laut Literatur<sup>[313]</sup> 700 mg (16.6 mmol) Diazomethan (72.2%). Da die nachfolgende Synthese einen großen Überschuss Diazomethan benötigt, wird auf eine genaue Gehaltsbestimmung der etherischen Lösung mittels Titration verzichtet.

Nach beendeter Synthese werden in den Vorlagekolben, den leeren Produktkolben, den Tropftrichter und die Etherfalle einige mL 1:1 verdünnte Essigsäure gegeben und über Nacht stehen gelassen. Die gesamte Apparatur sowie alle kontaminierten Glasgefäße werden danach über Nacht in Seifenlösung gegeben. Im Anschluss werden diese mit VE-H<sub>2</sub>O und Aceton gereinigt.

### 6.37. Allgemeine Arbeitsvorschrift: Synthese von $\beta$ -Aminosäuren



Sch. 6-4 Synthese von  $\beta$ -Aminosäuren mit Diazomethan 78.

Die geschützten  $\beta^3$ -Homoaminosäuren werden nach einer Literaturvorschrift von MÜLLER ET AL. aus den geschützten  $\alpha$ -Aminosäuren hergestellt (vgl. Sch. 6-4).<sup>[236]</sup> In Sch. 2-1 wird das allgemeine Vorgehen beschrieben.

Die geschützte  $\alpha$ -Aminosäure wird in trockenem THF (5 mL/mmol) gelöst und auf  $-15^\circ\text{C}$  abgekühlt. Unter Rühren mit einem Magnetrührer und einem Teflonrührfisch werden jeweils 1 eq  $\text{NEt}_3$  sowie Chlorameisensäureethylester langsam zugetropft. Die Mischung wird anschließend 15 Min. lang weiter gerührt und dann auf  $0^\circ\text{C}$  aufgewärmt. 3 eq Diazomethan in Ether werden langsam bei  $0^\circ\text{C}$  zugegeben, wobei die Drehzahl des Magnetrührers niedrig eingestellt wird. Die leicht-gelbliche Lösung wird bei Raumtemperatur für 3 h gerührt. Danach wird das überschüssige Diazomethan, das nicht abreagiert ist, mit der Zugabe von Eisessig tropfenweise neutralisiert. Die erhaltene Produktmischung wird mit gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung, gesättigter  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung sowie gesättigter  $\text{NaCl}$ -Lösung gewaschen. Die organische Schicht wird abgetrennt und über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet. Das Lösemittel wird am Rotations-verdampfer entfernt.

Das erhaltene Diazoketon wird in einer 5:1 (v/v) Dioxan/ $\text{H}_2\text{O}$  -Mischung (50 mL/mmol) in einem drucklosen Gefäß – großer Rundkolben mit Gasableitung – gelöst und 0.1 eq Silberbenzoat zugesetzt. Der Kolben mit Inhalt wird für 30 Min. in ein Ultraschallbad gehalten und der Reaktionsfortschritt mittels Dünnschichtchromatographie (EE/PE, 1:1) verfolgt. Sobald die Reaktion abgeschlossen ist, wird die Lösung mit 1 M  $\text{HCl}$  auf den pH-Wert 2 angesäuert und mit  $\text{Et}_2\text{O}$  vier Mal extrahiert. Die organischen Schichten werden vereint, über  $\text{MgSO}_4$  getrocknet und das Lösemittel am Rotationsverdampfer abgezogen.

Alternativ wird die etherische Produktlösung eingeeengt und mit gleichem Volumen an PE überschichtet. Über Nacht im Kühlschrank bei  $4^\circ\text{C}$  fällt reines Produkt aus, das leicht abfiltriert werden kann und unter Vakuum getrocknet wird. Die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren zeigen als Verunreinigung geringe Reste an PE an, die für die Peptidsynthese unkritisch sind.

Um die Ausbeute zu maximieren, kann die PE/ $\text{Et}_2\text{O}$ -Mutterlauge nach dem Abfiltrieren der  $\beta$ -Aminosäure am Rotationsverdampfer stark eingeeengt und mittels einer Chromatographiesäule ( $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$  20:1 + 1%  $\text{AcOH}$ ) aufgereinigt werden. Eigene Versuche haben gezeigt, dass sich die Ausbeute um maximal 10% erhöhen lässt.

### 6.38. Synthese von Fmoc- $\beta^3$ -L-Homotyrosin(tBu) **79**

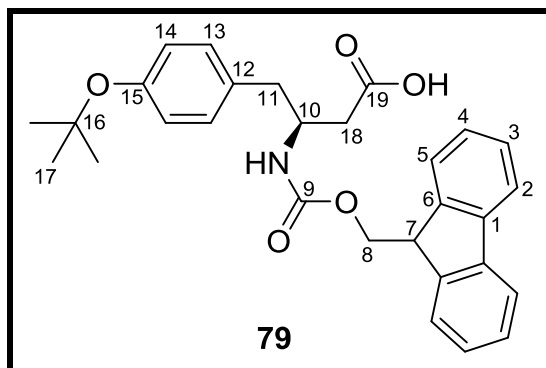


Abb. 6-12 Fmoc- $\beta^3$ -Homotyrosin(tBu) **79**.

Fmoc- $\beta^3$ -L-Homotyrosin(tBu) **79** wird entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift **6.37**<sup>[236]</sup> hergestellt.

Aus 2.191 g (5.43 mmol) Fmoc-L-Tyrosin(tBu) entstehen 1.543 g (3.26 mmol) Fmoc- $\beta^3$ -L-Homotyrosin(tBu) (60.0%), wobei auf eine Maximierung der Ausbeute durch Produktgewinnung aus der Mutterlauge verzichtet worden ist.

**$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K):**  $\delta$  = 0.7-1.3 (m, 17- $\text{H}_9$ ), 2.48 (d, 11- $\text{H}_2$ , 5.2 Hz), 2.34 (d, 18- $\text{H}_\alpha$ , 10.1 Hz)/2.78 (d, 18- $\text{H}_\beta$ , 10.1 Hz), 4.10 (t, 7- $\text{H}_1$ , 5.3 Hz), 4.29 (q, 10- $\text{H}_1$ , 4.8 Hz), 5.21 (d, 8- $\text{H}_2$ , 4.9 Hz), 6.81 (d, 14- $\text{H}_2$ , 2.5 Hz), 6.97 (d, 13- $\text{H}_2$ , 2.6 Hz), 7.21 (t, 4- $\text{H}_2$ , 7.1 Hz), 7.30 (t, 3- $\text{H}_2$ , 6.5 Hz), 7.47 (d, 5- $\text{H}_2$ , 5.2 Hz), 7.66 (d, 2- $\text{H}_2$ , 5.4 Hz).\*

\*H-N-Protonen sowie H-O-Protonen nicht sichtbar im NMR-Spektrum.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K):**  $\delta$  = 28.82 (17- $\text{C}_3$ ), 37.41 (11- $\text{C}_1$ ), 39.51 (18- $\text{C}_1$ ), 47.27 (7- $\text{C}_1$ ), 48.8 (10- $\text{C}_1$ ), 66.72 (8- $\text{C}_1$ ), 78.61 (16- $\text{C}_1$ ), 119.96 (5- $\text{C}_2$ ), 124.21 (14- $\text{C}_2$ ), 125.03 (4- $\text{C}_2$ ), 127.06 (2- $\text{C}_2$ ), 127.69 (3- $\text{C}_2$ ), 129.76 (13- $\text{C}_2$ ), 132.08 (12- $\text{C}_1$ ), 141.33 (1- $\text{C}_2$ ), 143.87 (6- $\text{C}_2$ ), 155.20 (15- $\text{C}_1$ ), 154.15 (9- $\text{C}_1$ ), 176.30 (19- $\text{C}_1$ ).

Das Signal des Diazoketon-Kohlenstoffs im  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum bei ca. 194.0 ppm ist nicht zu sehen, sodass davon ausgegangen werden kann, dass sich das Zwischenprodukt vollständig umgesetzt hat.

Für die Zuordnung wurden folgende NMR-Experimente genutzt:  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135, HSQC, HMBC, COSY.

**MS-ESI:**  $m/z$  = 474.6  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### 6.39. Synthese von Fmoc-β<sup>3</sup>-Homoglutaminsäure(Bzl) **80**

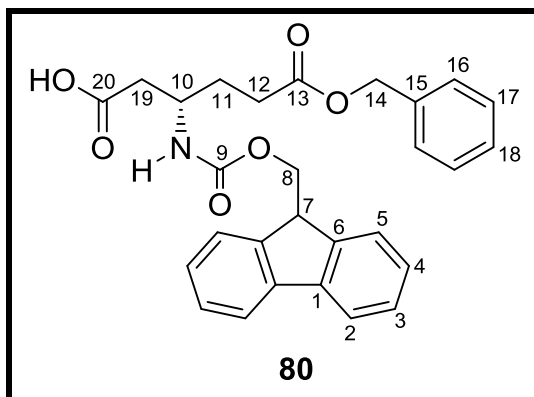


Abb. 6-13 Fmoc-β<sup>3</sup>-Homoglutaminsäure(Bzl) **80**.

Fmoc-β<sup>3</sup>-L-Homoglutaminsäure(Bzl) **80** wird entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6.37<sup>[236]</sup> hergestellt.

Aus 7.705 g (16.768 mmol) Fmoc-L-Glutaminsäure(Bzl) entstehen 6.663 g (14.071 mmol) Fmoc-β<sup>3</sup>-Homoglutaminsäure(Bzl) (84.3%), wobei auf eine Maximierung der Ausbeute durch Produktgewinnung aus der Mutterlauge verzichtet wird.

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K): δ = 1.93 (q, 11-H<sub>2</sub>, 7.9 Hz), 2.42 (t, 12-H<sub>2</sub>, 6.1 Hz), 2.24 (d, 19-H<sub>α</sub>, 1.5 Hz)/2.60 (d, 19-H<sub>β</sub>, 1.5 Hz), 4.17 (t, 7-H<sub>1</sub>, 4.8 Hz), 4.38 (m, br, 10-H<sub>1</sub>), 5.09 (s, 14-H<sub>2</sub>), 5.29 (d, 8-H<sub>2</sub>, 4.3 Hz), 7.25-7.38 (m, 3/4/16/17/18-H<sub>9</sub>), 7.55 (d, 5-H<sub>2</sub>, 4.0 Hz), 7.73 (d, 2-H<sub>2</sub>, 4.1 Hz).\*

\*H-N-Protonen sowie H-O-Protonen nicht sichtbar im NMR-Spektrum.

<sup>13</sup>C-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K): δ = 28.08 (12-C<sub>1</sub>), 29.10 (11-C<sub>1</sub>), 32.32 (19-C<sub>1</sub>), 38.96 (19-C<sub>1</sub>), 47.27 (7-C<sub>1</sub>), 47.84 (10-C<sub>1</sub>), 66.74 (8-C<sub>1</sub>), 80.88 (14-C<sub>1</sub>), 119.98 (5-C<sub>2</sub>), 125.06 (4-C<sub>2</sub>), 127.07 (2-C<sub>2</sub>), 127.70 (3/16-C<sub>4</sub>), 128.30 (17-C<sub>2</sub>), 128.61 (18-C<sub>1</sub>), 135.80 (15-C<sub>1</sub>), 141.33 (1-C<sub>2</sub>), 143.82 (6-C<sub>2</sub>), 156.02 (9-C<sub>1</sub>), 172.81 (13-C<sub>1</sub>), 175.83 (20-C<sub>1</sub>).

Das Signal des Diazoketon-Kohlenstoffs im <sup>13</sup>C-NMR-Spektrum bei ca. 194.0 ppm ist nicht zu sehen, sodass davon ausgegangen werden kann, dass sich das Zwischenprodukt vollständig umgesetzt hat.

Für die Zuordnung wurden folgende NMR-Experimente genutzt: <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, DEPT 135, HSQC, HMBC, COSY.

MS-ESI: m/z = 474.5 [M+H]<sup>+</sup>.

#### 6.40. Synthese von Fmoc- $\beta^3$ -Homolysin(Boc) 81

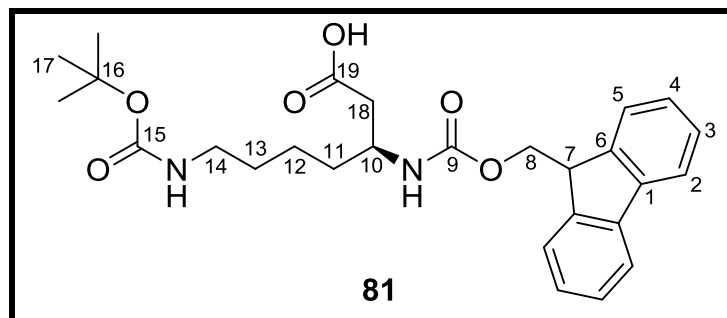


Abb. 6-14 Fmoc- $\beta^3$ -Homolysin(Boc) 81.

Fmoc- $\beta^3$ -L-Homolysin(Boc) wird entsprechend der allgemeinen Arbeitsvorschrift 6.37<sup>[236]</sup> hergestellt.

Aus 7.903 g (16.768 mmol) Fmoc-L-Lysin(Boc) entstehen 6.909 g (14.317 mmol) Fmoc- $\beta^3$ -L-Homolysin(Boc) (85.4%), wobei davon 0.600 g (7.4%) aus der Mutterlauge gewonnen worden sind.

**$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K):**  $\delta$  = 1.26-1.89 (br, 11/12/13- $\text{H}_\alpha$ ), 1.46 (s, 17- $\text{H}_9$ ), 2.35 (d, 18- $\text{H}_\alpha$ , 2.2 Hz)/2.60 (d, 18- $\text{H}_\beta$ , 2.2 Hz), 3.12 (br, 14- $\text{H}_2$ ), 3.99 (br, 10- $\text{H}_1$ ), 4.24 (d, 8- $\text{H}_2$ , 4.2 Hz), 4.42 (br, 7- $\text{H}_1$ ), 7.32 (t, 4- $\text{H}_2$ , 6.9 Hz), 7.40 (t, 3- $\text{H}_2$ , 7.2 Hz), 7.60 (d, 5- $\text{H}_2$ , 3.7 Hz), 7.90 (d, 2- $\text{H}_2$ , 3.4 Hz).\*

\*H-N-Protonen sowie H-O-Protonen nicht sichtbar im NMR-Spektrum.

**$^{13}\text{C-NMR}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K):**  $\delta$  = 23.13 (12- $\text{C}_1$ ), 28.42 (17- $\text{C}_3$ ), 29.60 (13- $\text{C}_1$ ), 33.82 (11- $\text{C}_1$ ), 38.82 (14- $\text{C}_1$ ), 40.16 (18- $\text{C}_1$ ), 47.31 (7- $\text{C}_1$ ), 48.13 (10- $\text{C}_1$ ), 66.66 (8- $\text{C}_1$ ), 79.28 (16- $\text{C}_1$ ), 119.96 (5- $\text{C}_2$ ), 125.07 (4- $\text{C}_2$ ), 127.06 (2- $\text{C}_2$ ), 127.68 (3- $\text{C}_2$ ), 141.34 (1- $\text{C}_2$ ), 143.90 (6- $\text{C}_2$ ), 156.06 (9- $\text{C}_1$ ), 161.70 (15- $\text{C}_1$ )\*\*, 175.02 (19- $\text{C}_1$ ).

\*\*Sehr schwaches Signal.

Das Signal des Diazoketon-Kohlenstoffs im  $^{13}\text{C-NMR}$ -Spektrum bei ca. 194.0 ppm ist nicht zu sehen, sodass davon ausgegangen werden kann, dass sich das Zwischenprodukt vollständig umgesetzt hat.

Für die Zuordnung wurden folgende NMR-Experimente genutzt:  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135, HSQC, HMBC, COSY.

**MS-ESI:**  $m/z$  = 483.6  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

## 6.41. Synthese der Fmoc-(1*S*,2*S*)-2-Aminocyclohexancarbonsäure (ACHC) **86**

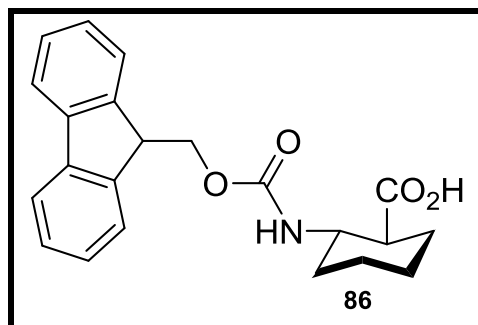
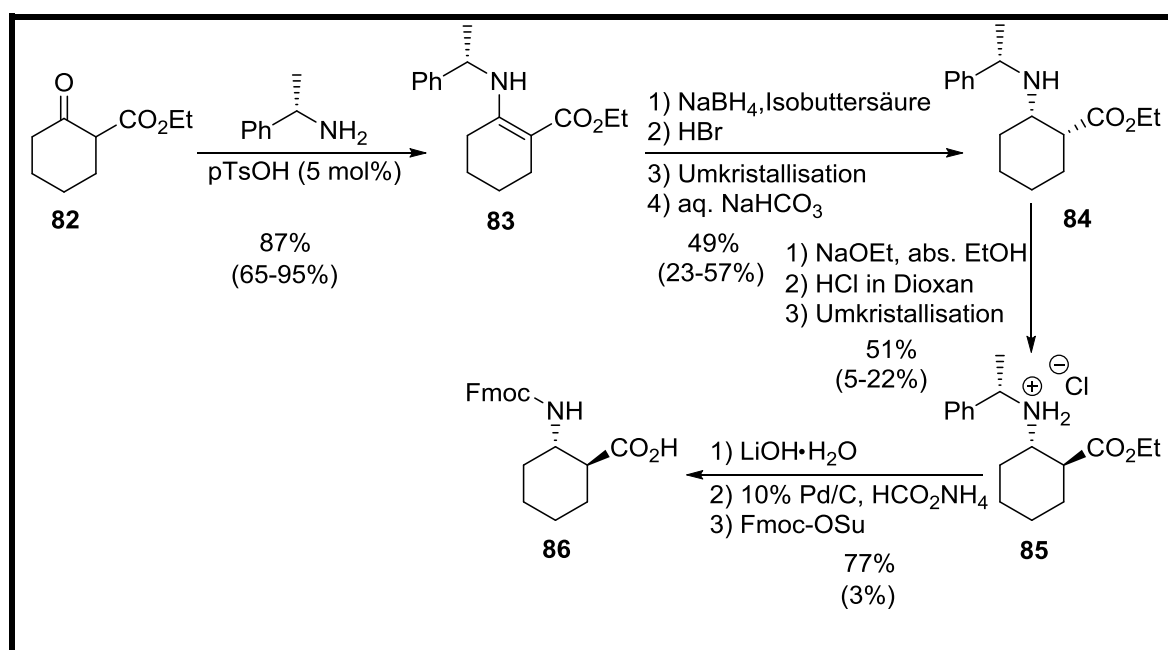


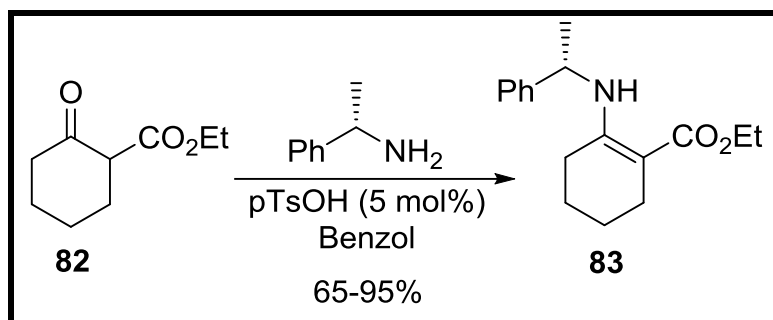
Abb. 6-15 Fmoc-(1*S*,2*S*)-2-Aminocyclohexancarbonsäure (Fmoc-ACHC) **79**.

Die Fmoc-geschützte, rigide  $\beta$ -Aminosäure ACHC **86** (vgl. Abb. 6-15) ist gemäß dem Verfahren von SCHINNERL ET AL.<sup>[291]</sup> (vgl. Sch. 6-5) enantiomerenrein hergestellt worden. Die tatsächlich erreichte Ausbeute weicht jedoch stark von der Literatur ab, sodass die eigene Laborsynthese unökonomisch ist.



Sch. 6-5 Synthese der enantiomerenreinen Fmoc-(1*S*,2*S*)-2-Aminocyclohexancarbonsäure (Fmoc-ACHC) **86**; entnommen aus Literatur<sup>[291]</sup>, Prozente in Klammern entsprechen erreichter Ausbeute.

Im Folgenden werden die einzelnen Teilreaktionen und Analysen der erhaltenen Zwischenprodukte bis zum finalen Produkt **86** gezeigt.



Sch. 6-6 Synthese des Enamins **83**, Ethyl-(*S*)-2-((1-phenylethyl)amino)cyclohex-1-en-1-carboxylat.

Eine Lösung aus 12.00 g (70.5 mmol) Ethyl-2-Oxocyclohexancarboxylat, 8.543 g (70.500 mmol) (*S*)-(-)- $\alpha$ -Methylbenzylamin sowie einer katalytischen Menge, 0.67 g (5 mol%), an *p*-Toluol-sulfonsäure in 150 mL Benzol wird an einem Wasserabscheider 6 Stunden lang bei schnellem Rühren unter Rückfluss gekocht, während kontinuierlich das entstandene H<sub>2</sub>O aus dem Prozess entfernt wird.

Das abgekühlte Reaktionsgemisch wird zwei Mal mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (je 75 mL) gewaschen. Die organische Phase wird über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und anschließend das Lösemittel abrotiert. Das Produkt **83** wird zu 18.300 g (66.941 mmol, 95.0%) als ein gelbes Öl erhalten. Bei Verwendung von Toluol als Schleppmittel für das entstehende Reaktionswasser verringert sich die Ausbeute auf 65%.

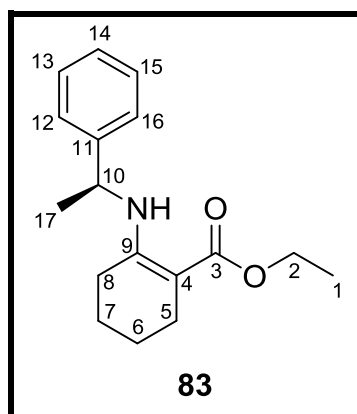


Abb. 6-16 Enamin **83**, Ethyl-(*S*)-2-((1-phenylethyl)amino)cyclohex-1-en-1-carboxylat.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K):  $\delta$  = 1.28 (t, 1-H<sub>3</sub>, 7.3 Hz), 1.40-1.56 (m, 6/7/17-H<sub>7</sub>), 1.90-1.99 (m, 5/8-H<sub>2</sub>), 2.23-2.35 (m, 5/8-H<sub>2</sub>), 4.16 (m, 2-H<sub>2</sub>, 3.5 Hz), 4.62 (qui, 10-H<sub>1</sub>, 7.3 Hz), 7.20 (t, 14-H<sub>1</sub>, 7.2 Hz), 7.23 (d, 12/16-H<sub>2</sub>, 7.4 Hz), 7.3 (t, 13/15-H<sub>2</sub>, 7.4 Hz), 9.40 (d, N-H<sub>1</sub>, 7.4 Hz).

<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K):  $\delta$  = 14.69 (1-C<sub>1</sub>), 22.21 (7-C<sub>1</sub>), 22.62 (6-C<sub>1</sub>), 23.83 (5-C<sub>1</sub>), 25.38 (17-C<sub>1</sub>), 26.64 (8-C<sub>1</sub>), 52.00 (10-C<sub>1</sub>), 58.70 (2-C<sub>1</sub>), 90.57 (4-C<sub>1</sub>), 125.44 (12/16-C<sub>2</sub>), 126.80 (14-C<sub>1</sub>), 128.69 (13/15-C<sub>2</sub>), 145.87 (11-C<sub>1</sub>), 159.06 (9-C<sub>1</sub>), 170.95 (3-C<sub>1</sub>).

---

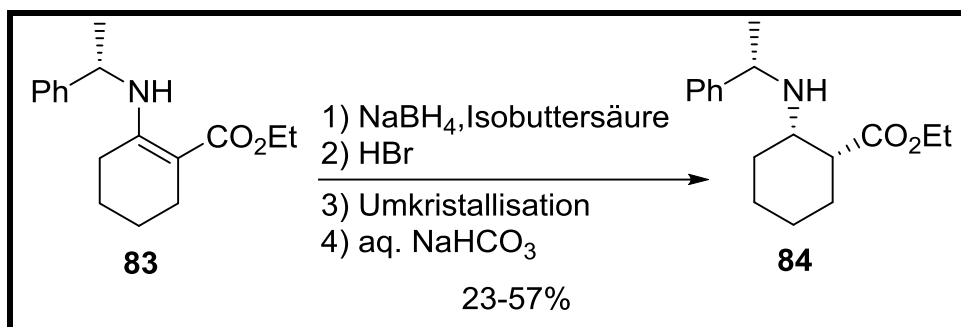
**MS-ESI:**  $m/z = 569.4 [2M+Na]^+, 296.2 [M+Na]^+, 274.2 [M+H]^+$ .

**Drehwert  $[\alpha]$ :** 20° C, DCM, 13.8 mg/mL.

$\lambda$ [nm]	589 (Na)	578 (Hg)	546 (Hg)	436 (Hg)	365 (Hg)
$[\alpha]$	-6,434	-6,818	-8,137	-18,828	-18,938

Für die Zuordnung wurden folgende NMR-Experimente genutzt:  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135, HSQC, HMBC, COSY.





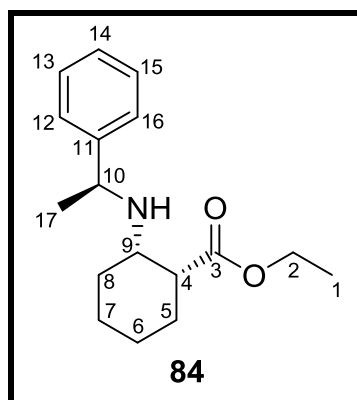
Sch. 6-7 Synthese des *cis*- $\beta$ -Esters **84**, Ethyl-(1*R*,2*S*)-2-(((*S*)-1-phenylethyl)amino)cyclohexan-1-carboxylat.

38.923 g (1028.900 mmol) Natriumborhydrid werden portionsweise unter einem Ar-Strom bei 0° C zu 625 mL Isobuttersäure gegeben. Die entstandene Mischung wird 30 Min. lang bei Raumtemperatur gerührt und anschließend wieder auf 0 °C abgekühlt. Eine Lösung von 93.760 g (342.970 mmol) Enamin **83** gelöst in 380 mL trockenem Toluol wird in die gekühlte Natriumborhydrid-Mischung langsam eingetropft. Das Reaktionsgemisch wird 1 Stunde lang bei 0° C gerührt. Danach werden erneut portionsweise 7.784 g (205.762 mmol) Natriumborhydrid zugesetzt und die Reaktion für weitere 2 Stunden bei 0° C stark gerührt. Sobald die Reaktion vollständig abgelaufen ist beziehungsweise keine Gasbildung mehr zu beobachten ist, wird die Reaktionsmischung vorsichtig in 1500 mL destilliertes Eiswasser eingetropft und 10 Min lang bei Raumtemperatur gerührt.

Die Mischung wird mit 3 M NaOH auf pH 10 eingestellt und mit Ethylacetat sechs Mal extrahiert (je 500 mL). Die kombinierte organische Phase wird unter MgSO<sub>4</sub> getrocknet sowie unter reduziertem Druck eingengt. Das entstandene Öl wird auf einem Kieselgel-Stopfen mit dem Laufmittel Hexan/EE im Verhältnis 1:1 gewaschen, wobei das Filtrat wiederum eingengt werden muss. Es entsteht schließlich ein farbloses Öl für die weitere Verarbeitung (91.984 g, 334.030 mmol, 97.4%).

Das farblose Öl wird in 1500 mL Ethylacetat gelöst und auf 0° C abgekühlt. Zu dieser Lösung werden 76 mL 32% (w/w) HBr (385.000 mmol) in Essigsäure unter heftigem Rühren zugegeben, so dass sich ein weißer, voluminöser Niederschlag bildet. Die Suspension wird über Nacht bei -20° C im Eisfach stehen gelassen, um die Fällung zu vervollständigen. Der weiße Niederschlag wird abfiltriert und drei Mal mit kaltem Ethylacetat (je 50 mL) gewaschen. Danach folgt eine Umkristallisation in Acetonitril. Zu diesem Zweck wird der Feststoff in 850 mL MeCN suspendiert und 1 h unter Rückfluss erhitzt. Während die Lösung noch heiß ist, wird sie durch einen Glaswolle-Stopfen filtriert und das Filtrat über zwei Nächte bei -20°C gelagert. Der entstandene weiße Feststoff wird abfiltriert, die Mutterlauge aufkonzentriert und zwei Mal über Nacht weiteres Produkt auskristallisiert. Die weißen Kristalle werden an der Trockenlinie unter Vakuum getrocknet.

Das feste Produkt wird in einem 5-L-Rundkolben mit 1500 mL gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung vermengt und mit 1500 mL Et<sub>2</sub>O über 2 Stunden gut durchmischt. Die zwei Phasen werden in einem 2-L-Scheidetrichter voneinander getrennt. Die organische Phase wird eingengt auf 500 mL und mit MgSO<sub>4</sub> über Nacht getrocknet. Danach wird die Lösung vom Trockenmittel filtriert, einrotiert und 2 Stunden lang unter Vakuum getrocknet. Es entstehen 53.700 g (194.995 mmol, 56.9%) farbloses Öl als Zwischenprodukt **84**.



**Abb. 6-17** *cis*- $\beta$ -Ester **84**, Ethyl-(1*R*,2*S*)-2-(((*S*)-1-phenylethyl)amino)cyclohexan-1-carboxylat.

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K):**  $\delta$  = 1.26 (d, 17- $\text{H}_3$ , 6.5 Hz), 1.29 (t, 1- $\text{H}_3$ , 7.3 Hz), 1.25-1.34 (m, br, 6/7- $\text{H}_2$ ), 1.42-1.87 (m, br, 5/6/7/8- $\text{H}_6$ ), 2.73 (m, 4- $\text{H}_1$ ), 2.83 (m, 9- $\text{H}_1$ ), 3.86 (q, 10- $\text{H}_1$ , 6.5 Hz), 4.17 (q, 2- $\text{H}_2$ , 7.1 Hz), 7.22 (m, 14- $\text{H}_1$ ), 7.31 (m, 13/15- $\text{H}_2$ ), 7.33 (m, 12/16- $\text{H}_2$ ).\*

\*H-N-Proton nicht sichtbar im NMR-Spektrum.

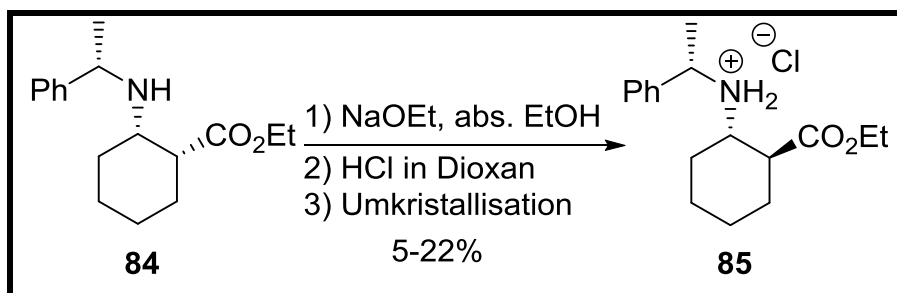
**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K):**  $\delta$  = 14.37 (1- $\text{C}_1$ ), 22.84 (7- $\text{C}_1$ ), 23.29 (6- $\text{C}_1$ ), 24.62 (17- $\text{C}_1$ ), 25.53 (5- $\text{C}_1$ ), 29.90 (8- $\text{C}_1$ ), 44.53 (4- $\text{C}_1$ ), 53.40 (9- $\text{C}_1$ ), 54.99 (10- $\text{C}_1$ ), 59.95 (2- $\text{C}_1$ ), 126.62 (12/16- $\text{C}_2$ ), 126.74 (14- $\text{C}_1$ ), 128.33 (13/15- $\text{C}_2$ ), 146.53 (11- $\text{C}_1$ ), 174.50 (3- $\text{C}_1$ ).

**MS-ESI:**  $m/z$  = 276.3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

**Drehwert  $[\alpha]$ :** 20° C, DCM, 12.4 mg/mL.

$\lambda$ [nm]	589 (Na)	578 (Hg)	546 (Hg)	436 (Hg)	365 (Hg)
$[\alpha]$	+0,615	+0,632	+0,729	+1,242	+1,948

Für die Zuordnung wurden folgende NMR-Experimente genutzt:  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135, HSQC, HMBC, COSY.

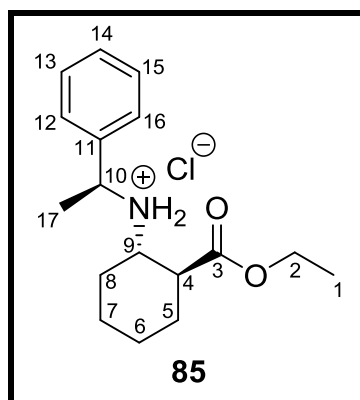


Sch. 6-8 Synthese des *trans*-β-Esters **85**, Ethyl-(1*S*,2*S*)-2-((*S*)-1-phenylethyl)amino)cyclohexan-1-carboxylathydrochlorid.

4.595 g (16.700 mmol) des *cis*-β-Esters **84** werden in 38.8 mL trockenem Ethanol in einem gut ausgeheizten Schlenkkolben unter Argon gelöst. In einem anderen Schlenkkolben werden unter einem Argon-Strom 5.914 g (83.427 mmol, 5 eq) Natriumethanolat und 155 mL trockenes Ethanol vorgelegt. Der gelöste Ester wird langsam zur frischen Natriumethanolat-Lösung zugetropft. Die Mischung wird für 15 Stunden bei 80°C unter Argon gerührt.

Das Lösemittel wird nach erfolgter Reaktion eingengt und der Rückstand in 116 mL einer gesättigten, eiskalten NaCl-Lösung aufgenommen. Der pH-Wert der Mischung wird mit Eisessig auf pH 10 eingestellt. Anschließend wird mit Ethylacetat vier Mal (je 70 mL) extrahiert. Die gesammelte organische Phase wird über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, abfiltriert und unter reduziertem Druck aufkonzentriert. Das entstandene Öl (4.16 g, 15.116 mmol, 90.5%) wird auf einem Kieselgel-Stopfen mittels Hexan/EE im Verhältnis 3:1 gesäult, wobei das Filtrat abermals unter Vakuum einrotiert wird.

Das erhaltene blassgelbe Öl wird als nächstes in 14.5 mL EE gelöst und in 4.2 mL 4 M HCl in Dioxan (16.700 mmol) bei Raumtemperatur eingetropft. Die Lösung wird dann auf 0° C gekühlt und über 48 h bei 4° C im Kühlschrank stehen gelassen. Der gebildete Niederschlag wird abfiltriert und dabei drei Mal mit kaltem Ethylacetat (je 10 mL) gewaschen, um schließlich das Rohprodukt zu erhalten. Der Feststoff wird in 38 mL MeCN suspendiert und unter Rückfluss eine Stunde lang erhitzt. Die noch heiße Lösung wird über einen Baumwoll-Stopfen filtriert und über Nacht im Kühlschrank bei 4° C stehen gelassen. Der entstandene Rückstand wird abfiltriert und drei Mal mit kaltem MeCN (je 6 mL) gewaschen, wobei die verbliebene Mutterlauge mit der Waschflüssigkeit kombiniert und unter Vakuum einrotiert werden, bis weiteres Produkt entsteht. Der farblose Feststoff wird unter Vakuum getrocknet (1.13 g, 3.620 mmol, 21.7%).



**Abb. 6-18** *trans*-β-Ester **85**, Ethyl-(1*S*,2*S*)-2-(((*S*)-1-phenylethyl)amino)cyclohexan-1-carboxylathydrochlorid.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K): δ = 1.32 (t, 1-H<sub>3</sub>, 7.2 Hz), 1.94 (d, 17-H<sub>3</sub>, 6.8 Hz), 0.9-2.23 (m, br, 5/6/7/8-H<sub>8</sub>), 3.08-3.18 (br, 4/9-H<sub>2</sub>), 4.27 (m, 10-H<sub>1</sub>), 4.61 (br, 2-H<sub>2</sub>), 7.38 (t, 14-H<sub>1</sub>, 6.8 Hz), 7.43 (t, 13/15-H<sub>2</sub>, 7.5 Hz), 7.81 (d, 12/16-H<sub>2</sub>, 7.3 Hz), 9.69/9.92 (br, N-H<sub>2</sub>).

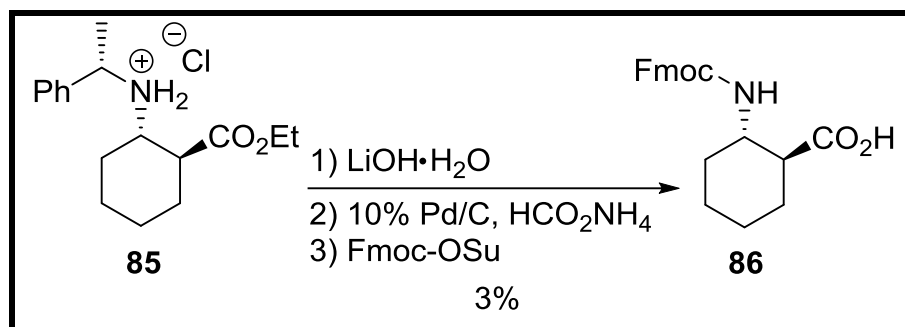
<sup>13</sup>C-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>, 300 K): δ = 14.15 (1-C<sub>1</sub>), 20.68 (7-C<sub>1</sub>), 23.93 (6-C<sub>1</sub>), 24.14 (17-C<sub>1</sub>), 29.47 (5-C<sub>1</sub>), 30.13 (8-C<sub>1</sub>), 46.07 (4-C<sub>1</sub>), 56.73 (9-C<sub>1</sub>), 59.63 (10-C<sub>1</sub>), 61.36 (2-C<sub>1</sub>), 128.62 (12/16-C<sub>2</sub>), 129.06 (13/15-C<sub>2</sub>), 129.16 (14-C<sub>1</sub>), 136.81 (11-C<sub>1</sub>), 174.34 (3-C<sub>1</sub>).

**MS-ESI:** m/z = 276.3 [M+H-HCl]<sup>+</sup>.

**Drehwert [α]:** 20° C, MeOH, 13.8 mg/mL.

λ [nm]	589 (Na)	578 (Hg)	546 (Hg)	436 (Hg)	365 (Hg)
[°]	-0,446	-0,463	-0,515	-0,786	-1,039

Für die Zuordnung wurden folgende NMR-Experimente genutzt: <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, DEPT 135, HSQC, HMBC, COSY.



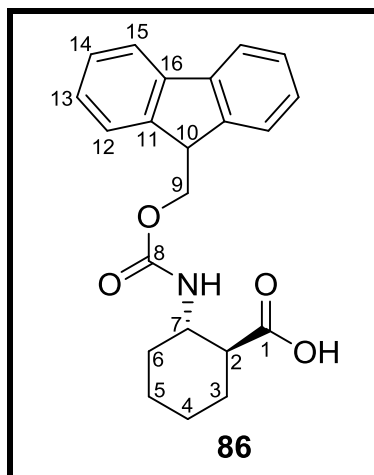
Sch. 6-9 Synthese der Fmoc-(1S,2S)-2-Aminocyclohexancarbonsäure (Fmoc-AHC) **86**.

1 g (3.200 mmol) *trans*- $\beta$ -Ester-Hydrochlorid **85** werden in 36 mL einer Mischung von THF:EtOH:H<sub>2</sub>O 2:1:1 gelöst und die klare Lösung auf 0° C gekühlt. 0.67 g (16.100 mmol) LiOH·H<sub>2</sub>O werden in 4 mL H<sub>2</sub>O gelöst und zur gekühlten Lösung zugegeben. Die Mischung wird für 65 Stunden bei 0° C gerührt. Anschließend wird das Lösemittel abrotiert, um einen weißen Feststoff zu erhalten.

0.75 g (5 mol%) Pd/C und 1.822 g (28.900 mmol) Ammoniumformiat werden bei Raumtemperatur unter einem Ar-Strom zu einer trüben Mischung des vorhergehenden Zwischenprodukts in 72 mL MeOH gegeben. Die Suspension wird für 2 h unter Rückfluss erhitzt und der Reaktionsverlauf mittels der DC verfolgt. Sobald die Reaktion vollständig abgelaufen ist, wird die abgekühlte Mischung über Celite filtriert und das Filtrat einrotiert, bis ein weißer Feststoff als Rückstand übrig bleibt.

Die erhaltene (1S,2S)-*trans*-Aminocyclohexancarbonsäure wird in 36 mL einer 2:1 Mischung aus Aceton und H<sub>2</sub>O gelöst sowie auf 0° C gekühlt. Es werden 1.083 g, (3.200 mmol) Fmoc-OSu und 2.697 g (32.100 mmol) NaHCO<sub>3</sub> zugegeben. Die erhaltene Mischung wird zunächst bei 0° C für eine Stunde gerührt und anschließend bei Raumtemperatur über Nacht. Das Aceton wird abrotiert und der wässrige Rückstand mit 25 mL H<sub>2</sub>O verdünnt. Das gewünschte Produkt wird über 1 h lang bei Raumtemperatur zwei Mal (je 150 mL) Et<sub>2</sub>O extrahiert. Nach der Phasentrennung wird die Etherphase drei Mal mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung (je 150 mL) gewaschen. Die kombinierte Waschlösung wird mit 1 M HCl-Lösung angesäuert, bis keine Gasbildung mehr zu beobachten ist, und drei Mal mit EE (je 150 mL) ausgeschüttelt. Die organischen Phasen (Et<sub>2</sub>O und EE) werden gemeinsam über MgSO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und schließlich abrotiert, sodass ein weißer Feststoff als Produkt **86** (0.030 g, 0.082 mmol, 2.6%) übrig bleibt.

Die analytischen Daten des Produkts zeigen, dass die Überführung des Ethylesters **85** in die Carbonsäure **86** mit einem ungewöhnlich schlechtem Umsatz im Vergleich zur Literaturvorschrift<sup>[291]</sup> verlaufen ist.



**Abb. 6-19** Fmoc-(1S,2S)-2-Aminocyclohexancarbonsäure (Fmoc-ACHC) **86**.

**$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K):**  $\delta$  = 1.00-2.40 (m, br, 3-/4-/5-/6- $\text{H}_8$ ), 3.33 (qui, br, 7- $\text{H}_1$ ), 3.69 (t, br, 2- $\text{H}_1$ ), 4.15-4.23 (m, br, 10- $\text{H}_1$ ), 4.23-4.35 (m, br, 9- $\text{H}_2$ ), 7.30 (t, br, 13- $\text{H}_2$ ), 7.38 (t, 14- $\text{H}_2$ , 7.3 Hz), 7.61 (d, br, 15- $\text{H}_2$ ), 7.76 (d, 12- $\text{H}_2$ , 7.3 Hz).

**$^{13}\text{C}$ -NMR (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ , 300 K):**  $\delta$  = 24.36 (5- $\text{C}_1$ ), 24.62 (4- $\text{C}_1$ ), 29.06 (3- $\text{C}_1$ ), 32.43 (6- $\text{C}_1$ ), 47.09 (2- $\text{C}_1$ ), 49.22 (10- $\text{C}_1$ ), 51.31 (7- $\text{C}_1$ ), 66.45 (9- $\text{C}_1$ ), 119.63 (12- $\text{C}_2$ ), 124.99 (13- $\text{C}_2$ ), 126.88 (15- $\text{C}_2$ ), 127.46 (14- $\text{C}_2$ ), 143.82 (16- $\text{C}_2$ ), 144.02 (11- $\text{C}_2$ ), 156.60 (8- $\text{C}_1$ ), 176.94 (1- $\text{C}_1$ ).

**MS-ESI:**  $m/z$  = 366.4  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

Für die Zuordnung wurden folgende NMR-Experimente genutzt:  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , DEPT 135, HSQC, HMBC, COSY.



---

## 7. Schemaverzeichnis

---

Sch. 2-1 Synthese einer $\beta^3$ -Aminosäure mittels Arndt-Eistert-Homologisierung. ....	30
Sch. 2-2 Synthese einer $\beta$ -Aminosäure über Cyanhydrine.....	31
Sch. 2-3 Synthese einer $\beta$ -Aminosäure über chirale Sulfinimine. ....	31
Sch. 2-4 Synthese einer $\beta$ -Aminosäure über eine asymmetrisch katalysierte Konjugat-Addition. ....	32
Sch. 2-5 Synthese einer $\beta$ -Aminosäure über eine asymmetrisch katalysierte Mannich-Reaktion. ....	33
Sch. 2-6 Synthese einer $\beta$ -Aminosäure über eine asymmetrische Hydrierung eines Enamins. (*) Konfiguration abhängig vom Rest R.....	33
Sch. 2-7 Synthese einer carbozyklischen $\beta$ -Aminosäure über eine [4+2]-Zykloaddition. ....	34
Sch. 2-8 Synthese einer $\beta$ -Aminosäure über eine biokatalytische Racematspaltung mittels Acylase I.....	35
Sch. 2-9 Reaktion einer aktivierten Aminosäure bei RT, X = gute Abgangsgruppe der aktivierten Aminosäure. ....	39
Sch. 2-10 Aktivierung einer Carbonsäure zu einem Aktivester mittels HBTU. ....	39
Sch. 2-11 Eliminierung des $\alpha$ -Protons einer aktivierten Aminosäure, X = gute Abgangsgruppe, B = Base. <sup>[282, 283]</sup> .....	40
Sch. 2-12 Zyklisierung zu einem Oxazolone einer aktivierten Aminosäure. <sup>[282, 284, 285]</sup> .....	40
Sch. 2-13 Fmoc-Abspaltung mittels Piperidin; Produkt Dibenzofulvenaddukt <b>65</b> wird detektiert. ....	44
Sch. 6-1 Reaktion des TNBS mit einer freien Aminogruppe. ....	87
Sch. 6-2 Synthese von Diazald® <b>75</b> , N-Methyl-N-nitroso-p-toluolsulfonamid. ....	103
Sch. 6-3 Synthese von Diazomethan <b>78</b> aus Diazald® <b>76</b> . ....	105
Sch. 6-4 Synthese von $\beta$ -Aminosäuren mit Diazomethan <b>78</b> .....	107
Sch. 6-5 Synthese der enantiomerenreinen Fmoc-(1S,2S)-2-Aminocyclohexancarbonsäure (Fmoc-ACHC) <b>86</b> ; entnommen aus Literatur <sup>[291]</sup> , Prozente in Klammern entsprechen erreichter Ausbeute. ....	111
Sch. 6-6 Synthese des Enamins <b>83</b> , Ethyl-(S)-2-((1-phenylethyl)amino)cyclohex-1-en-1-carboxylat. ....	112
Sch. 6-7 Synthese des cis- $\beta$ -Esters <b>84</b> , Ethyl-(1R,2S)-2-(((S)-1-phenylethyl)amino)cyclohexan-1-carboxylat. ....	114
Sch. 6-8 Synthese des trans- $\beta$ -Esters <b>85</b> , Ethyl-(1S,2S)-2-(((S)-1-phenylethyl)amino)cyclohexan-1-carboxylathydrochlorid.....	116



---

**Sch. 6-9** Synthese der Fmoc-(1*S*,2*S*)-2-Aminocyclohexancarbonsäure (Fmoc-ACHC) **86.** ... 118

---

## 8. Tabellenverzeichnis

---

<b>Tab. 2-1</b> An der Selbstassemblierung beteiligten Kräfte im Gleichgewicht. <sup>[87]</sup> .....	19
<b>Tab. 2-2</b> Beispiele stereoselektiver Synthesen von $\beta$ -Aminosäuren.....	29
<b>Tab. 4-1</b> Massentabelle zum Roh- $\beta$ -Peptid <b>66</b> aus ESI-MS-HPLC-Spektrum (positiver Modus). .....	49
<b>Tab. 4-2</b> Massentabelle zum Roh- $\beta$ -Peptid <b>66</b> aus ESI-MS-HPLC-Spektrum (negativer Modus). .....	50
<b>Tab. 4-3</b> Massentabelle zum Roh- $\beta$ -Peptid <b>66</b> aus MALDI-TOF-Massenspektrum. ....	50
<b>Tab. 4-4</b> Zugabe des $\beta$ -Peptidgemischs <b>66</b> zu D <sub>2</sub> O und Beobachtung der Selbstassemblierung (Gelierung, Doppelbrechung). ....	51
<b>Tab. 4-5</b> Beispiele automatisierter Peptidsynthesen des $\beta$ -Peptids <b>66</b> mit optimierten Bedingungen. ....	52
<b>Tab. 4-6</b> Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids <b>66</b> aus Synthese 5 (positiver Modus).....	53
<b>Tab. 4-7</b> Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids <b>66</b> aus manueller Synthese (positiver Modus). ....	54
<b>Tab. 4-8</b> Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids <b>67</b> .....	57
<b>Tab. 4-9</b> Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids <b>68a</b> .....	60
<b>Tab. 4-10</b> Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids <b>68b</b> .....	61
<b>Tab. 4-11</b> Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids <b>69</b> .....	66
<b>Tab. 4-12</b> Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ - $\gamma$ -Peptids <b>70</b> .....	69
<b>Tab. 4-13</b> Zugabe der Peptidfraktionen aus der Synthese des <b>70</b> zu CDCl <sub>3</sub> , D <sub>2</sub> O, DMSO-d <sub>6</sub> , MeOD-d <sub>4</sub> , Benzol-d <sub>6</sub> und Beobachtung der Doppelbrechung. ....	70
<b>Tab. 4-14</b> Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh-Peptids <b>72</b> .....	74
<b>Tab. 4-15</b> Massentabelle zum ESI-Massenspektrum des Roh-Peptids <b>72a</b> .....	77
<b>Tab. 4-16</b> Zugabe des Peptids <b>72a</b> zu MeOD-D <sub>4</sub> , D <sub>2</sub> O und Beobachtung der Doppelbrechung. .....	78

---

## 9. Abbildungsverzeichnis

---

Abb. 1-1 Beispiele für Sekundärstrukturen von Peptiden; Abbildung entnommen aus <sup>[9]</sup> .....	1
Abb. 2-1 Zweidimensionale NMR-Experimente und zugehörige Korrelationen der skalaren Kopplung. <sup>[36]</sup> .....	5
Abb. 2-2 Korrelationen über den Raum mittels NOE-NMR-Experimenten. <sup>[36]</sup> .....	6
Abb. 2-3 Abhängigkeit der <sup>3</sup> J <sub>H-H</sub> -Kopplung vom Diederwinkel mit beispielhaften Parametern: A=4.51, B=-0.5, C=4.5. ....	7
Abb. 2-4 Gegenseitige magnetische Wechselwirkung zweier Kernspins (I und S) im homogenen Magnetfeld B <sub>0</sub> . ....	8
Abb. 2-5 Dipolare Kopplungen im Festkörper (links) und Orientierungsmedium (rechts).....	9
Abb. 2-6 Funktionsweise eines LLC-Orientierungsmediums und Auswirkungen auf NMR-Spektren des Analyten.....	10
Abb. 2-7 Spins I und S im externen Magnetfeld B <sub>0</sub> und ihr Verbindungsvektor.....	10
Abb. 2-8 Beschreibung des Vorgehens beim Messen und Auswerten residueller, dipolarer Kopplungen; Abbildung zur Verfügung gestellt von C. THIELE aus dem AK THIELE, TU DARMSTADT.....	12
Abb. 2-9 Beispiele für calamitische (links) und diskotische (rechts) Mesogene eines Flüssigkristalls. <sup>[61]</sup> .....	13
Abb. 2-10 Umwandlung eines thermotropen Flüssigkristalls unter Temperaturerhöhung. ....	13
Abb. 2-11 Nematische (links) und smektische (rechts) LC-Phasen.....	14
Abb. 2-12 Cholesterische LC-Phase. ....	14
Abb. 2-13 Klassifizierung der Selbstassemblierung und zugehörige Objektgröße der Aufbauelemente. ....	18
Abb. 2-14 Einfluss der Kräfte auf die resultierende, selbstassemblierte Überstruktur. ....	19
Abb. 2-15 Allgemeines Schema für Selbstassemblierung inklusive Aggregaten höherer Ordnung. ....	20
Abb. 2-16 Idealisierte Selbstassemblierung von helikalen Mesogenen in Lösung zu einer LLC-Phase. ....	20
Abb. 2-17 Beispiele einiger Foldamere im Vergleich zum α-Peptid; [*] markiert stereogene Zentren. ....	21
Abb. 2-18 Definition Diederwinkel in Peptiden. ....	22
Abb. 2-19 Einfluss der Substituenten auf die Ausbildung einer β-Peptid-Helix; idealisierte (M)-3 <sub>14</sub> -Helix (links); Abbildung entnommen aus <sup>[125]</sup> ; Newman-Projektion entlang der C <sub>β</sub> -C <sub>α</sub> -Bindung der β-Aminosäure-Bausteine (rechts).....	23

<b>Abb. 2-20</b> Wasserstoffbrückenbindung in einer 14-Helix.....	24
<b>Abb. 2-21</b> Wasserstoffbrückenbindung in einer 12/10-Helix. ....	24
<b>Abb. 2-22</b> Wasserstoffbrückenbindung in einer 12-Helix; Substituenten sind der Übersicht wegen nicht dargestellt. ....	25
<b>Abb. 2-23</b> Wasserstoffbrückenbindung in einer 10-Helix; Substituenten sind der Übersicht wegen nicht dargestellt. ....	25
<b>Abb. 2-24</b> Wasserstoffbrückenbindung in einer 8-Helix; Substituenten sind der Übersicht wegen nicht dargestellt. ....	25
<b>Abb. 2-25</b> Vergleich zwischen $\alpha$ -Aminosäure (links) und $\beta$ -Homoaminosäure (rechts). ....	26
<b>Abb. 2-26</b> Nomenklatur der $\beta$ -Aminosäure-Derivate nach SEEBACH ET AL. <sup>[24]</sup> .....	27
<b>Abb. 2-27</b> Allgemeine Darstellung zyklischer $\beta$ -Aminosäuren. ....	27
<b>Abb. 2-28</b> $\beta$ -Alanin und Beispiele in denen diese $\beta$ -Aminosäure enthalten ist. ....	28
<b>Abb. 2-29</b> Retrosynthetische Schnitte der $\beta$ -Aminosäure-Synthese. ....	28
<b>Abb. 2-30</b> Lösung von 1 Gew% C <sub>16</sub> -KKFFVLK in H <sub>2</sub> O im TEM (links) und angesetzte gelartige Probe (rechts); Abbildungen entnommen aus <sup>[271]</sup> .....	36
<b>Abb. 2-31</b> Beobachtete Aggregatstrukturen und flüssigkristallines Verhalten wässriger Lösungen von P <sub>11</sub> -II mit zunehmender Konzentration c (logarithmische Skala) nach monatelanger Equilibrierung. (a) Elektronenmikroskopbild von Schleifen (c = 0.2 mM, 4 Monate Equilibrierung); (b) Elektronenmikroskopbild von Fasern (c = 6.2 mM, 4 Monate Equilibrierung); (c) Elektronenmikroskopbild von Fasern (c = 6.2 mM, 1 Monat Equilibrierung); (d) Elektronenmikroskopbild von Fasern (c = 6.2 mM, 1 Monat Equilibrierung); (e) Population der Überstrukturen von P <sub>11</sub> -II mit zunehmender Konzentration c; (f) Mit einem Polarisationsmikroskop aufgenommenes Bild von Schlierentexturen (c = 3.7 mM); (g) Selbsttragendes, doppelbrechendes Gel aus P <sub>11</sub> -II (c = 6.2 mM); Abbildungen entnommen aus <sup>[25]</sup> .....	37
<b>Abb. 2-32</b> Modell der Ausbildung von Nanoröhren aus $\beta$ -Strukturen des Peptids A <sub>6</sub> K; Abbildung entnommen aus <sup>[281]</sup> .....	38
<b>Abb. 2-33</b> Beispiele für selektive Fluorierungsreagenzien. ....	41
<b>Abb. 2-34</b> (1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> )-2-Aminocyclohexancarbonsäure (ACHC) als Beispiel für eine sterisch gehinderte $\beta$ -Aminosäure. ....	41
<b>Abb. 2-35</b> Häufig verwendete Harz-Matrizen für die SPPS mit starkem Quellverhalten, X = Linker-Gruppe. ....	42
<b>Abb. 2-36</b> Häufig verwendete Linker-Gruppen für den C-Terminus der ersten Aminosäure einer Peptidsequenz. ....	42
<b>Abb. 2-37</b> Häufig verwendete Schutzgruppen der SHEPPARD-Taktik, Aminosäuren: N <sub><math>\alpha</math></sub> -Terminus (links) – Seitenketten (rechts).....	43

<b>Abb. 4-1</b> LLC-phasenbildendes $\beta$ -Peptid <b>66</b> mit der sterisch anspruchsvollen, zyklischen $\beta$ -Aminosäure ACHC, $M_W = (1469.98 + 342.06)$ Da. <sup>[14]</sup> .....	47
<b>Abb. 4-2</b> Fmoc-Rink-Amid-AM-Harz für die Synthese $\beta$ -Peptids <b>66</b> , <b>PS</b> = quervernetztes Polystyrol. ....	48
<b>Abb. 4-3</b> Grafische Auftragung der Konzentration des Dibenzofulvenaddukts im Abfallstrom während der automatisierten Peptidsynthese des $\beta$ -Peptids <b>66</b> ; Reihenfolge Kupplungszyklen von links nach rechts.....	48
<b>Abb. 4-4</b> ESI-MS-HPLC-Chromatogramm des Roh- $\beta$ -Peptids <b>66</b> ( $6\text{-}\beta^3\text{hY-(ACHC-ACHC-}\beta^3\text{hK)}_3\bullet 3\text{-TFA}$ ), 5 - 15 Min. Gradient 2-100%B (Acetonitril) .....	49
<b>Abb. 4-5</b> Gemittelte ESI-Massenpeaks der HPLC-Hauptfraktion bei 18 - 69% B (Acetonitril); ohne Molekülpeak. ....	49
<b>Abb. 4-6</b> MALDI-TOF-Massenpektrum des $\beta$ -Peptids <b>66</b> zeigt Oligomere mit AS-Deletionen. ....	50
<b>Abb. 4-7</b> ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids <b>66</b> aus Synthese 5 mit Zusatz von DMSO im Lösemittel. ....	53
<b>Abb. 4-8</b> ESI-Massenspektrum des manuell hergestellten Roh- $\beta$ -Peptids <b>66</b> ohne Hexansäurerest am N-Terminus.....	54
<b>Abb. 4-9</b> $\beta$ -Peptid <b>67</b> aus $\beta^3$ -Homolysin, $M_W = 1054.48$ Da.....	56
<b>Abb. 4-10</b> ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids <b>67</b> .....	57
<b>Abb. 4-11</b> CD-Spektrum des Roh- $\beta$ -Peptids <b>67</b> in MeOH, $c = 0.138$ mg/mL = $0.131$ mmol/L. ....	58
<b>Abb. 4-12</b> $\beta$ -Peptid <b>68</b> aus $\beta^3$ -Homoaminosäuren, $M_W = 2452.92$ Da. ....	59
<b>Abb. 4-13</b> ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids <b>68a</b> . ....	60
<b>Abb. 4-14</b> ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids <b>68b</b> , Molekülpeak $[M+2H]^{2+} = 2\cdot 1227.2$ Da = $2454.2$ Da. ....	61
<b>Abb. 4-15</b> Vermutete Nebenprodukte bei der Synthese des $\beta$ -Peptids <b>68</b> ; berechnete (gemessene) Molmasse. ....	62
<b>Abb. 4-16</b> CD-Spektrum der $\beta$ -Peptidmischung <b>68b</b> in TFE, $c = 0.26$ mg/mL = $0.106$ mmol/L. ....	64
<b>Abb. 4-17</b> $\beta$ -Peptid <b>69</b> aus $\beta^3$ -Homoaminosäuren mit einer benzylierten Seitenkette mehr als <b>68</b> , $M_W = 2544.02$ Da. ....	65
<b>Abb. 4-18</b> ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ -Peptids <b>69</b> , Molekülpeak $[M+2H]^{2+} = 2\cdot 1272.8$ Da = $2545.6$ Da. ....	65
<b>Abb. 4-19</b> CD-Spektrum des $\beta$ -Peptids <b>69</b> in TFE, $c = 0.31$ mg/mL = $0.122$ mmol/L.....	67
<b>Abb. 4-20</b> $\beta$ - $\gamma$ -Peptid <b>70</b> mit der $\gamma$ -Aminosäure Ada <sup>Gly</sup> <b>71</b> als strukturgebende Einheit, $M_W = 1782.47$ Da. ....	68

<b>Abb. 4-21</b> $\gamma$ -Aminosäure <b>71</b> ( <i>1r</i> , <i>3s</i> , <i>5R</i> , <i>7S</i> )-3-Aminoadamantan-1-carbonsäure (Ada <sup>Gly</sup> ), Herkunft siehe Anhang.....	68
<b>Abb. 4-22</b> ESI-Massenspektrum des Roh- $\beta$ - $\gamma$ -Peptids <b>70</b> .....	69
<b>Abb. 4-23</b> $\beta$ -Strukturbildner <b>72</b> , P <sub>11</sub> -II, M <sub>w</sub> = 1594.71 Da.....	73
<b>Abb. 4-24</b> ESI-Massenspektrum des Roh-Peptids <b>72</b> , P <sub>11</sub> -II. ....	74
<b>Abb. 4-25</b> Peptid <b>72</b> , P <sub>11</sub> -II, in D <sub>2</sub> O.....	75
<b>Abb. 4-26</b> Peptid <b>72</b> , P <sub>11</sub> -II, und um eine Glutaminsäure verkürztes Derivat in D <sub>2</sub> O.....	76
<b>Abb. 4-27</b> ESI-Massenspektrum des Roh-Peptids <b>72a</b> .....	77
<b>Abb. 4-28</b> CD-Spektrum des Peptids <b>72a</b> in TFE, c = 0.6 mg/mL = 0.364 mmol/L.....	78
<b>Abb. 6-1</b> $\beta$ -Peptid <b>60</b> , 6- $\beta^3$ hY-[ACHC-ACHC- $\beta^3$ hK] <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub> . ....	95
<b>Abb. 6-2</b> $\beta$ -Peptid <b>67</b> , Ac-[ $\beta^3$ hK] <sub>7</sub> -NH <sub>2</sub> .....	96
<b>Abb. 6-3</b> $\beta$ -Peptid <b>68</b> , H-[ $\beta^3$ hE(Bzl)- $\beta^3$ hE(Bzl)- $\beta^3$ hK] <sub>4</sub> -OH.....	97
<b>Abb. 6-4</b> $\beta$ -Peptid <b>69</b> , H-[ $\beta^3$ hE(Bzl)- $\beta^3$ hE(Bzl)- $\beta^3$ hK]-[ $\beta^3$ hE(Bzl)] <sub>3</sub> -[ $\beta^3$ hE(Bzl)- $\beta^3$ hE(Bzl)- $\beta^3$ hK] <sub>2</sub> -OH. ....	98
<b>Abb. 6-5</b> $\beta$ - $\gamma$ -Peptid <b>70</b> , 6- $\beta^3$ hY-[Ada <sup>Gly</sup> -Ada <sup>Gly</sup> - $\beta^3$ hK] <sub>3</sub> -NH <sub>2</sub> . ....	99
<b>Abb. 6-6</b> $\beta$ -Strukturbildner <b>72</b> , P <sub>11</sub> -II: Ac-Q-Q-R-F-Q-W-Q-F-E-Q-Q-NH <sub>2</sub> . ....	100
<b>Abb. 6-7</b> $\beta$ -Strukturbildner <b>72a</b> , P <sub>11</sub> -II/6: C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> -Q-Q-R-F-Q-W-Q-F-E-Q-Q-NH <sub>2</sub> .....	101
<b>Abb. 6-8</b> Polyprolin <b>73</b> , M <sub>w</sub> = 6816.26 Da.....	102
<b>Abb. 6-9</b> CD-Spektrum des Peptids <b>73</b> in H <sub>2</sub> O, c = 2.5 mg/mL = 0.366 mmol/L. ....	102
<b>Abb. 6-10</b> Diazald® <b>69</b> , N-Methyl-N-nitroso-p-toluolsulfonamid .....	104
<b>Abb. 6-11</b> Schema der Destillationsapparatur, Diazald®-Kit, mit flammgeschliffenen Schliffen.....	105
<b>Abb. 6-12</b> Fmoc- $\beta^3$ -Homotyrosin(tBu) <b>79</b> . ....	108
<b>Abb. 6-13</b> Fmoc- $\beta^3$ -Homoglutaminsäure(Bzl) <b>80</b> .....	109
<b>Abb. 6-14</b> Fmoc- $\beta^3$ -Homolysin(Boc) <b>81</b> .....	110
<b>Abb. 6-15</b> Fmoc-(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> )-2-Aminocyclohexancarbonsäure (Fmoc-ACHC) <b>79</b> .....	111
<b>Abb. 6-16</b> Enamin <b>83</b> , Ethyl-( <i>S</i> )-2-((1-phenylethyl)amino)cyclohex-1-en-1-carboxylat.....	112
<b>Abb. 6-17</b> <i>cis</i> - $\beta$ -Ester <b>84</b> , Ethyl-(1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> )-2-((( <i>S</i> )-1-phenylethyl)amino)cyclohexan-1-carboxylat. .....	115
<b>Abb. 6-18</b> <i>trans</i> - $\beta$ -Ester <b>85</b> , Ethyl-(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> )-2-((( <i>S</i> )-1-phenylethyl)amino)cyclohexan-1- carboxylathydrochlorid. ....	117

---

<b>Abb. 6-19</b> Fmoc-(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> )-2-Aminocyclohexancarbonsäure (Fmoc-ACHC) <b>86</b> .....	119
--	-----

---

## 10. Literaturverzeichnis

---

- [1] W. G. MacCallum, *JAMA, J. Am. Med. Assoc.* **1911**, *LVI*, 655-658.
- [2] F. G. Banting, C. H. Best, *J. Lab. Clin. Med.* **1922**, *7*, 256-271.
- [3] F. G. Banting, C. H. Best, *J. Lab. Clin. Med.* **1922**, *7*, 464-472.
- [4] P. H. A. Sneath, *J. Theor. Biol.* **1966**, *12*, 157-195.
- [5] C. M. B. Edwards, *Q. J. Med.* **1999**, *92*, 1-4.
- [6] T. Rajangam, S. S. An, *Int. J. Nanomed.* **2013**, *8*, 3641-3662.
- [7] N. Sewald, H.-D. Jakubke, in *Peptides chemistry and biology*, 2., rev. and updated ed., Wiley-VCH, Weinheim, **2009**, 36-43.
- [8] E. Gazit, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1263-1269.
- [9] A. S. Klimenko, G. R. Dieckmann, in *Peptide Materials: From Nanostructures to Applications* (Eds.: C. Alemán, A. Bianco, M. Venanzi), **2013**, 217-245.
- [10] D. Seebach, M. Overhand, F. N. M. Kuhnle, et al., *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 913-941.
- [11] D. Seebach, P. E. Ciceri, M. Overhand, et al., *Helv. Chim. Acta* **1996**, *79*, 2043-2066.
- [12] M. Werder, H. Hauser, S. Abele, et al., *Helv. Chim. Acta* **1999**, *82*, 1774-1783.
- [13] W. C. Pomerantz, V. M. Yuwono, R. Drake, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 13604-13613.
- [14] C. M. Thiele, W. C. Pomerantz, N. L. Abbott, et al., *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 502-504.
- [15] A. Saupe, G. Englert, *Phys. Rev. Lett.* **1963**, *11*, 462-464.
- [16] N. Tjandra, A. Bax, *Science* **1997**, *278*, 1111-1114.
- [17] N. C. Meyer, A. Krupp, V. Schmidts, et al., *Angew. Chem. Int. Edit.* **2012**, *51*, 8334-8338.
- [18] A. Marx, C. M. Thiele, *Chem. - Eur. J.* **2009**, *15*, 254-260.
- [19] A. Marx, V. Schmidts, C. M. Thiele, *Magn. Reson. Chem.* **2009**, *47*, 734-740.
- [20] A. Marx, B. Böttcher, C. M. Thiele, *Chem. - Eur. J.* **2010**, *16*, 1656-1663.
- [21] B. Luy, K. Kobzar, H. Kessler, *Angew. Chem. Int. Edit.* **2004**, *43*, 1092-1094.
- [22] J. C. Freudenberger, P. Spiteller, R. Bauer, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 14690-14691.
- [23] T. Montag, C. M. Thiele, *Chem. - Eur. J.* **2013**, *19*, 2271-2274.
- [24] D. Seebach, J. L. Matthews, *Chem. Commun.* **1997**, 2015-2022.
- [25] A. Aggeli, I. A. Nyrkova, M. Bell, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2001**, *98*, 11857-11862.
- [26] F. Bloch, W. W. Hansen, M. Packard, *Phys. Rev.* **1946**, *69*, 127-127.
- [27] E. M. Purcell, H. C. Torrey, R. V. Pound, *Phys. Rev.* **1946**, *69*, 37-38.
- [28] R. E. Hurd, *J. Magn. Reson.* **1990**, *87*, 422-428.
- [29] W. P. Aue, E. Bartholdi, R. R. Ernst, *J. Chem. Phys.* **1976**, *64*, 2229-2246.
- [30] A. Bax, D. G. Davis, *J. Magn. Reson.* **1985**, *65*, 355-360.
- [31] A. G. Palmer, J. Cavanagh, P. E. Wright, et al., *J. Magn. Reson.* **1991**, *93*, 151-170.
- [32] R. E. Hurd, B. K. John, *J. Magn. Reson.* **1991**, *91*, 648-653.
- [33] A. Bax, M. F. Summers, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 2093-2094.
- [34] L. Braunschweiler, R. R. Ernst, *J. Magn. Reson.* **1983**, *53*, 521-528.
- [35] B. Reif, M. Köck, R. Kerssebaum, et al., *J. Magn. Reson., Ser. A* **1996**, *118*, 282-285.
- [36] T. D. W. Claridge, *High-resolution NMR techniques in organic chemistry*, 2nd ed., Elsevier, Amsterdam ; Boston, **2009**.
- [37] J. Jeener, B. H. Meier, P. Bachmann, et al., *J. Chem. Phys.* **1979**, *71*, 4546-4553.
- [38] A. Bax, D. G. Davis, *J. Magn. Reson.* **1985**, *63*, 207-213.
- [39] A. W. Overhauser, *Phys. Rev.* **1953**, *92*, 411-415.
- [40] P. L. Rinaldi, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 5167-5168.
- [41] C. Yu, G. C. Levy, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 6994-6996.
- [42] M. Karplus, *J. Chem. Phys.* **1959**, *30*, 11-15.



- [43] M. Karplus, *J. Phys. Chem.* **1960**, 64, 1793-1798.
- [44] M. Karplus, *J. Am. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2870-2871.
- [45] B. Reif, M. Hennig, C. Griesinger, *Science* **1997**, 276, 1230-1233.
- [46] B. Reif, H. Steinhagen, B. Junker, et al., *Angew. Chem. Int. Edit.* **1998**, 37, 1903-1906.
- [47] C. M. Thiele, *Eur. J. Org. Chem.* **2008**, 5673-5685.
- [48] E. R. Andrew, A. Bradbury, R. G. Eades, *Nature* **1958**, 182, 1659-1659.
- [49] I. J. Lowe, *Phys. Rev. Lett.* **1959**, 2, 285-287.
- [50] B. Böttcher, V. Schmidts, J. A. Raskatov, et al., *Angew. Chem. Int. Edit.* **2010**, 49, 205-209.
- [51] B. Böttcher, C. M. Thiele, *eMagRes* **2012**, 1, 169-180.
- [52] J. Courtieu, D. W. Alderman, D. M. Grant, *J. Am. Chem. Soc.* **1981**, 103, 6783-6784.
- [53] J. Courtieu, J. P. Bayle, B. M. Fung, *Prog. Nucl. Magn. Reson. Spectrosc.* **1994**, 26, 141-169.
- [54] T. Montag, PhD-Thesis, TU Darmstadt (Darmstadt), **2013**.
- [55] C. M. Thiele, V. Schmidts, B. Böttcher, et al., *Angew. Chem. Int. Edit.* **2009**, 48, 6708-6712.
- [56] H. Sun, U. M. Reinscheid, E. L. Whitson, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, 133, 14629-14636.
- [57] J. L. Yan, A. D. Kline, H. P. Mo, et al., *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 1786-1795.
- [58] F. Kramer, M. V. Deshmukh, H. Kessler, et al., *Concepts Magn. Reson., Part A* **2004**, 21A, 10-21.
- [59] V. Schmidts, PhD-Thesis, TU Darmstadt **2013**.
- [60] O. Lehmann, *Z. Phys. Chem.* **1889**, 4, 462-472.
- [61] D. Demus, J. W. Goodby, G. W. Gray, et al., *Handbook of Liquid Crystals, Handbook of Liquid Crystals: Four Volume Set*, Wiley, **1998**.
- [62] H. Stegemeyer, *Lyotrope Flüssigkristalle Grundlagen, Entwicklung, Anwendung*, Steinkopff, Darmstadt, **1999**.
- [63] M. Panar, W. D. Phillips, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, 90, 3880-3882.
- [64] M. Sarfati, P. Lesot, D. Merlet, et al., *Chem. Commun.* **2000**, 2069-2081.
- [65] C. Aroulanda, V. Boucard, F. Guibé, et al., *Chem. - Eur. J.* **2003**, 9, 4536-4539.
- [66] C. M. Thiele, S. Berger, *Org. Lett.* **2003**, 5, 705-708.
- [67] C. M. Thiele, *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 7403-7413.
- [68] C. Aroulanda, M. Sarfati, J. Courtieu, et al., *Enantiomer* **2001**, 6, 281-287.
- [69] P. Lesot, M. Sarfati, D. Merlet, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 7689-7695.
- [70] M. Sarfati, C. Aroulanda, J. Courtieu, et al., *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, 12, 737-744.
- [71] M. Rivard, F. Guillen, J. C. Fiaud, et al., *Tetrahedron: Asymmetry* **2003**, 14, 1141-1152.
- [72] L. Arnold, A. Marx, C. M. Thiele, et al., *Chem. - Eur. J.* **2010**, 16, 10342-10346.
- [73] M. Dama, S. Berger, *Tetrahedron Lett.* **2012**, 53, 6439-6442.
- [74] M. Dama, S. Berger, *Org. Lett.* **2012**, 14, 241-243.
- [75] A. N. Gent, *Macromolecules* **1969**, 2, 262-265.
- [76] B. Deloche, E. T. Samulski, *Macromolecules* **1981**, 14, 575-581.
- [77] R. R. Gil, C. Gayathri, N. V. Tsarevsky, et al., *J. Org. Chem.* **2008**, 73, 840-848.
- [78] P. Haberz, J. Farjon, C. Griesinger, *Angew. Chem. Int. Edit.* **2005**, 44, 427-429.
- [79] G. Kummerlöwe, J. Auernheimer, A. Lendlein, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 6080-6081.
- [80] J. C. Freudenberger, S. Knor, K. Kobzar, et al., *Angew. Chem. Int. Edit.* **2005**, 44, 423-426.
- [81] P. Kaden, J. C. Freudenberger, B. Luy, *Magn. Reson. Chem.* **2012**, 50, 22-28.
- [82] K. Kobzar, H. Kessler, B. Luy, *Angew. Chem. Int. Edit.* **2005**, 44, 3145-3147.
- [83] I. W. Hamley, *Soft Matter* **2011**, 7, 4122-4138.

- [84] D. A. W. Thompson, *On Growth and Form.*, University Press, Cambridge, **1917**.
- [85] O.-S. Lee, V. Cho, G. C. Schatz, *Nano Lett.* **2012**, *12*, 4907-4913.
- [86] D. L. Piet, A. V. Straube, A. Snezhko, et al., *Phys. Rev. E* **2013**, *88*.
- [87] Y. S. Lee, *Self-assembly and nanotechnology : a force balance approach*, John Wiley & Sons, Hoboken, N.J., **2008**.
- [88] J. H. Clint, S. E. Taylor, *Colloids Surf.* **1992**, *65*, 61-67.
- [89] S. H. Gellman, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173-180.
- [90] C. Hemmerlin, M. Marraud, D. Rognan, et al., *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 3692-3711.
- [91] V. Semetey, D. Rognan, C. Hemmerlin, et al., *Angew. Chem. Int. Edit.* **2002**, *41*, 1893.
- [92] P. Le Grel, A. Salaun, M. Potel, et al., *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 5638-5645.
- [93] A. Zega, *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 589-597.
- [94] J. L. Hou, X. B. Shao, G. J. Chen, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 12386-12394.
- [95] F. S. Bie, Y. Wang, J. Shang, et al., *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, *2013*, 8135-8144.
- [96] R. N. Zuckermann, *Curr. Opin. Struct. Biol.* **1993**, *3*, 580-584.
- [97] J. M. Kerr, S. C. Banville, R. N. Zuckermann, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 2529-2531.
- [98] S. M. Miller, R. J. Simon, S. Ng, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1994**, *4*, 2657-2662.
- [99] R. N. Zuckermann, E. J. Martin, D. C. Spellmeyer, et al., *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2678-2685.
- [100] D. Seebach, A. K. Beck, D. J. Bierbaum, *Chem. Biodiversity* **2004**, *1*, 1111-1239.
- [101] L. Guo, W. Zhang, A. G. Reidenbach, et al., *Angew. Chem. Int. Edit.* **2011**, *50*, 5843-5846.
- [102] H. D. Arndt, B. Ziemer, U. Koert, *Org. Lett.* **2004**, *6*, 3269-3272.
- [103] H. Jiang, J. M. Leger, C. Dolain, et al., *Tetrahedron* **2003**, *59*, 8365-8374.
- [104] H. Jiang, J. M. Leger, I. Huc, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 3448-3449.
- [105] C. Baldauf, R. Gunther, H. J. Hofmann, *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 6214-6220.
- [106] W. S. Horne, M. D. Boersma, M. A. Windsor, et al., *Angew. Chem. Int. Edit.* **2008**, *47*, 2853-2856.
- [107] W. S. Horne, J. L. Price, S. H. Gellman, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2008**, *105*, 9151-9156.
- [108] L. Guo, A. M. Almeida, W. Zhang, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 7868-7869.
- [109] D. H. Appella, L. A. Christianson, I. L. Karle, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 13071-13072.
- [110] M. D. Zotti, F. Formaggio, M. Crisma, et al., *J. Pept. Sci.* **2014**, *20*, 307-322.
- [111] T. A. Martinek, G. K. Toth, E. Vass, et al., *Angew. Chem. Int. Edit.* **2002**, *41*, 1718-1721.
- [112] T. A. Martinek, F. Fulop, *Eur. J. Biochem.* **2003**, *270*, 3657-3666.
- [113] L. Pauling, R. B. Corey, H. R. Branson, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1951**, *37*, 205-211.
- [114] A. Banerjee, P. Balaram, *Curr. Sci.* **1997**, *73*, 1067-1077.
- [115] A. Banerjee, S. Raghothama, P. Balaram, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2* **1997**, 2087-2094.
- [116] A. J. Doig, M. J. E. Sternberg, *Protein Sci.* **1995**, *4*, 2247-2251.
- [117] J. Zhang, J. S. Liu, *PLoS Comput. Biol.* **2006**, *2*, 1586-1591.
- [118] C. Cole, J. Warwicker, *Protein Sci.* **2009**, *11*, 2860-2870.
- [119] T. Soares, M. Christen, K. Hu, et al., *Tetrahedron* **2004**, *60*, 7775-7780.
- [120] B. Keller, Z. Gattin, W. F. van Gunsteren, *Proteins: Struct., Funct., Bioinf.* **2010**, *78*, 1677-1690.
- [121] J. R. Allison, M. Müller, W. F. van Gunsteren, *Protein Sci.* **2010**, *19*, 2186-2195.
- [122] D. A. Niggli, M. O. Ebert, Z. X. Lin, et al., *Chem. - Eur. J.* **2012**, *18*, 586-593.
- [123] D. Seebach, S. Abele, K. Gademann, et al., *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 932-982.
- [124] D. Seebach, R. I. Mathad, T. Kimmerlin, et al., *Helv. Chim. Acta* **2005**, *88*, 1969-1982.
- [125] D. Seebach, D. F. Hook, A. Glättli, *Biopolymers* **2006**, *84*, 23-37.

- [126] D. H. Appella, L. A. Christianson, I. L. Karle, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 6206-6212.
- [127] D. H. Appella, J. J. Barchi, S. R. Durell, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2309-2310.
- [128] M. Rueping, Y. R. Mahajan, B. Jaun, et al., *Chem. - Eur. J.* **2004**, *10*, 1607-1615.
- [129] T. L. Raguse, J. R. Lai, P. R. LePlae, et al., *Org. Lett.* **2001**, *3*, 3963-3966.
- [130] T. L. Raguse, J. R. Lai, S. H. Gellman, *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 4154-4164.
- [131] T. L. Raguse, J. R. Lai, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 5592-5593.
- [132] M.-r. Lee, T. L. Raguse, M. Schinnerl, et al., *Org. Lett.* **2007**, *9*, 1801-1804.
- [133] D. Seebach, S. Abele, T. Sifferlen, et al., *Helv. Chim. Acta* **1998**, *81*, 2218-2243.
- [134] S. Hanessian, X. H. Luo, R. Schaum, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 8569-8570.
- [135] D. Seebach, A. Jacobi, M. Rueping, et al., *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 2115-2140.
- [136] J. J. Barchi, X. Huang, D. H. Appella, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 2711-2718.
- [137] M. Rueping, J. V. Schreiber, G. Lelais, et al., *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 2577-2593.
- [138] T. Hintermann, D. Seebach, *Synlett* **1997**, 437-438.
- [139] D. Seebach, J. V. Schreiber, S. Abele, et al., *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 34-57.
- [140] T. J. Peelen, Y. G. Chi, E. P. English, et al., *Org. Lett.* **2004**, *6*, 4411-4414.
- [141] J. S. Park, H. S. Lee, L. Jr, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 8539-8545.
- [142] M. G. Woll, J. D. Fisk, P. R. LePlae, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 12447-12452.
- [143] P. R. LePlae, J. D. Fisk, E. A. Porter, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 6820-6821.
- [144] E. A. Porter, X. Wang, M. A. Schmitt, et al., *Org. Lett.* **2002**, *4*, 3317-3319.
- [145] H. S. Lee, F. A. Syud, X. F. Wang, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 7721-7722.
- [146] X. F. Wang, J. F. Espinosa, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 4821-4822.
- [147] D. H. Appella, L. A. Christianson, D. A. Klein, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7574-7581.
- [148] A. Hetenyi, I. M. Mandity, T. A. Martinek, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 547-553.
- [149] T. D. W. Claridge, J. M. Goodman, A. Moreno, et al., *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 4251-4255.
- [150] K. Gademann, A. Hane, M. Rueping, et al., *Angew. Chem. Int. Edit.* **2003**, *42*, 1534-1537.
- [151] G. Lelais, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 4152-4168.
- [152] A. Cheguillaume, A. Salaun, S. Sinbandhit, et al., *J. Org. Chem.* **2001**, *66*, 4923-4929.
- [153] D. Yang, J. Qu, B. Li, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 589-590.
- [154] C. Peter, X. Daura, W. F. van Gunsteren, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 7461-7466.
- [155] L. A. Christianson, M. J. Lucero, D. H. Appella, et al., *J. Comput. Chem.* **2000**, *21*, 763-773.
- [156] X. Daura, K. Gademann, B. Jaun, et al., *Angew. Chem. Int. Edit.* **1999**, *38*, 236-240.
- [157] G. Lelais, D. Seebach, B. Jaun, et al., *Helv. Chim. Acta* **2006**, *89*, 361-403.
- [158] Y. J. Chung, B. R. Huck, L. A. Christianson, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 3995-4004.
- [159] D. Seebach, S. Abele, K. Gademann, et al., *Angew. Chem. Int. Edit.* **1999**, *38*, 1595-1597.
- [160] X. Daura, K. Gademann, H. Schafer, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2393-2404.
- [161] D. Seebach, T. Sifferlen, D. J. Bierbaum, et al., *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 2877-2917.
- [162] D. Seebach, T. Sifferlen, P. A. Mathieu, et al., *Helv. Chim. Acta* **2000**, *83*, 2849-2864.
- [163] J. M. Langenhan, I. A. Guzei, S. H. Gellman, *Angew. Chem. Int. Edit.* **2003**, *42*, 2402-2405.
- [164] S. Krauthauser, L. A. Christianson, D. R. Powell, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 11719-11720.
- [165] C. Peter, M. Rueping, H. J. Worner, et al., *Chem. - Eur. J.* **2003**, *9*, 5838-5849.
- [166] H. N. Gopi, R. S. Roy, S. R. Raghothama, et al., *Helv. Chim. Acta* **2002**, *85*, 3313-3330.

- [167] R. S. Roy, H. N. Gopi, S. Raghothama, et al., *Biopolymers* **2005**, 80, 787-799.
- [168] R. S. Roy, H. N. Gopi, S. Raghothama, et al., *Chem. - Eur. J.* **2006**, 12, 3295-3302.
- [169] W. F. DeGrado, J. P. Schneider, Y. Hamuro, *J. Pept. Res.* **1999**, 54, 206-217.
- [170] U. Strijowski, N. Sewald, *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 1105.
- [171] E. Vass, U. Strijowski, K. Wollschläger, et al., *J. Pept. Sci.* **2010**, 16, 613-620.
- [172] J. Podlech, D. Seebach, *Liebigs Ann.* **1995**, 1217-1228.
- [173] P. Ehrenfreund, D. P. Glavin, O. Botta, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2001**, 98, 2138-2141.
- [174] E. Juaristi, V. A. Solosonok, *Enantioselective synthesis of [beta]-amino acids*, 2. ed ed., Wiley, Hoboken, NJ, **2005**.
- [175] L. Kiss, F. Fülöp, *Chem. Rev.* **2013**.
- [176] F. Arndt, B. Eistert, W. Partale, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1927**, 60, 1364-1370.
- [177] F. Arndt, B. Eistert, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1935**, 68, 200-208.
- [178] B. Eistert, *Angew. Chem.* **1941**, 54, 99-105.
- [179] B. Eistert, *Angew. Chem.* **1941**, 54, 124-131.
- [180] B. Eistert, *Die Chemie* **1942**, 55, 118-121.
- [181] L. Wolff, *Liebigs Ann. Chem.* **1902**, 325, 129-195.
- [182] L. Wolff, R. Krüche, *Liebigs Ann. Chem.* **1912**, 394, 23-59.
- [183] J. Jurczak, A. Golebiowski, *Chem. Rev.* **1989**, 89, 149-164.
- [184] S. Steurer, J. Podlech, *Eur. J. Org. Chem.* **1999**, 1999, 1551-1560.
- [185] G. Tasic, R. Matovic, R. N. Saicic, *J. Serb. Chem. Soc.* **2004**, 69, 981-990.
- [186] F. A. Davis, J. M. Szewczyk, *Tetrahedron Lett.* **1998**, 39, 5951-5954.
- [187] D. Morton, R. A. Stockman, *Tetrahedron* **2006**, 62, 8869-8905.
- [188] M. P. Sibi, J. J. Shay, M. Liu, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 6615-6616.
- [189] J. K. Myers, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, 121, 8959-8960.
- [190] D. J. Guerin, T. E. Horstmann, S. J. Miller, *Org. Lett.* **1999**, 1, 1107-1109.
- [191] T. E. Horstmann, D. J. Guerin, S. J. Miller, *Angew. Chem. Int. Edit.* **2000**, 39, 3635-3638.
- [192] D. J. Guerin, S. J. Miller, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 2134-2136.
- [193] M. Liu, M. P. Sibi, *Tetrahedron* **2002**, 58, 7991-8035.
- [194] A. Cordova, S. Watanabe, F. Tanaka, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 1866-1867.
- [195] Y. G. Chi, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 6804-6805.
- [196] Y. Chi, E. P. English, W. C. Pomerantz, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 6050-6055.
- [197] Y. Hsiao, N. R. Rivera, T. Rosner, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 9918-9919.
- [198] M. Calmes, F. Escale, C. Didierjean, et al., *Tetrahedron: Asymmetry* **2007**, 18, 2491-2496.
- [199] O. Songis, C. Didierjean, C. Laurent, et al., *Eur. J. Org. Chem.* **2007**, 3166-3172.
- [200] A. Liljeblad, L. T. Kanerva, *Tetrahedron* **2006**, 62, 5831-5854.
- [201] H. Groger, H. Trauthwein, S. Buchholz, et al., *Org. Biomol. Chem.* **2004**, 2, 1977-1978.
- [202] R. Herranz, J. Castro-Pichel, T. García-López, *Synthesis* **1989**, 1989, 703-706.
- [203] G. M. Sammis, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 4442-4443.
- [204] G. M. Sammis, H. Danjo, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 9928-9929.
- [205] M. S. Taylor, D. N. Zalatan, A. M. Lerchner, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 1313-1317.
- [206] D. A. Evans, F. Urpi, T. C. Somers, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, 112, 8215-8216.
- [207] A. G. Wenzel, E. N. Jacobsen, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 12964-12965.
- [208] B. D. Vineyard, W. S. Knowles, M. J. Sabacky, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1977**, 99, 5946-5952.
- [209] K. Achiwa, T. Soga, *Tetrahedron Lett.* **1978**, 19, 1119-1120.
- [210] M. Furukawa, T. Okawara, Y. Noguchi, et al., *Chem. Pharm. Bull.* **1979**, 27, 2223-2226.
- [211] W. D. Lubell, M. Kitamura, R. Noyori, *Tetrahedron: Asymmetry* **1991**, 2, 543-554.

- [212] T. P. Dang, H. B. Kagan, *J. Chem. Soc. D* **1971**, 481.
- [213] H. B. Kagan, T. P. Dang, *J. Am. Chem. Soc.* **1972**, 94, 6429-6433.
- [214] J. Halpern, *Science* **1982**, 217, 401-407.
- [215] Z. Yu, W. Jin, Q. Jiang, *Angew. Chem.* **2012**, 124, 6164-6177.
- [216] D. Enders, O. Meyer, G. Raabe, *Synthesis* **1992**, 1242-1244.
- [217] S. Choi, R. B. Silverman, *J. Med. Chem.* **2002**, 45, 4531-4539.
- [218] S. Choi, P. Storici, M. Schirmer, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 1620-1624.
- [219] M. Calmes, F. Escale, C. Didierjean, et al., *Chirality* **2011**, 23, 245-249.
- [220] J. Barluenga, F. Aznar, C. Ribas, et al., *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 6746-6753.
- [221] J. Barluenga, F. Aznar, C. Ribas, et al., *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 10052-10056.
- [222] B. L. Hodous, G. C. Fu, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 10006-10007.
- [223] B. L. Hodous, G. C. Fu, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, 124, 1578-1579.
- [224] E. C. Lee, B. L. Hodous, E. Bergin, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 11586-11587.
- [225] C. Fernandes, C. Gauzy, Y. Yang, et al., *Synthesis* **2007**, 2222-2232.
- [226] R. Hanselmann, J. Zhou, P. Ma, et al., *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 8739-8741.
- [227] G. R. Ott, N. Asakawa, Z. Lu, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, 18, 694-699.
- [228] S. I. Murahashi, Y. Imada, M. Kohno, et al., *Synlett* **1993**, 395-396.
- [229] M. Shindo, K. Itoh, C. Tsuchiya, et al., *Org. Lett.* **2002**, 4, 3119-3121.
- [230] M. Shindo, K. Itoh, K. Ohtsuki, et al., *Synthesis* **2003**, 1441-1445.
- [231] T. Kitazume, K. Murata, *J. Fluorine Chem.* **1987**, 36, 339-349.
- [232] T. Kitazume, K. Murata, Y. Kokusho, et al., *J. Fluorine Chem.* **1988**, 39, 75-86.
- [233] K. R. Rao, Y. V. D. Nageswar, H. M. S. Kumar, *Tetrahedron Lett.* **1991**, 32, 6611-6612.
- [234] A. Banerjee, M. Chase, R. A. Clayton, et al., WO 2005005633 A3, **2005**.
- [235] P. Frey, F. Ruzicka, WO 2004021981 A3, **2005**.
- [236] A. Müller, C. Vogt, N. Sewald, *Synthesis* **1998**, 837-841.
- [237] M. Reches, Y. Porat, E. Gazit, *J. Biol. Chem.* **2002**, 277, 35475-35480.
- [238] E. Gazit, *Faseb J.* **2002**, 16, 77-83.
- [239] Y. Porat, A. Stepensky, F. X. Ding, et al., *Biopolymers* **2003**, 69, 161-164.
- [240] S. K. Maji, D. Haldar, M. G. B. Drew, et al., *Tetrahedron* **2004**, 60, 3251-3259.
- [241] E. Gazit, *Febs J.* **2005**, 272, 5971-5978.
- [242] M. Reches, E. Gazit, *Phys. Biol.* **2006**, 3, S10-S19.
- [243] L. Adler-Abramovich, M. Reches, V. L. Sedman, et al., *Langmuir* **2006**, 22, 1313-1320.
- [244] R. J. A. Hill, V. L. Sedman, S. Allen, et al., *Adv. Mater.* **2007**, 19, 4474-4479.
- [245] G. Colombo, P. Soto, E. Gazit, *Trends Biotechnol.* **2007**, 25, 211-218.
- [246] M. Levy, N. Garmy, E. Gazit, et al., *Febs J.* **2007**, 274, 1878-1878.
- [247] E. Gazit, *Prion* **2007**, 1, 32-35.
- [248] P. Tamamis, L. Adler-Abramovich, M. Reches, et al., *Biophys. J.* **2009**, 96, 5020-5029.
- [249] V. Castelletto, I. W. Hamley, C. e. Cenker, et al., *J. Phys. Chem. B* **2011**, 115, 2107-2116.
- [250] R. P. W. Davies, A. Aggeli, *J. Pept. Sci.* **2011**, 17, 107-114.
- [251] A. A. Deeg, T. E. Schrader, S. Kempter, et al., *Chemphyschem* **2011**, 12, 559-562.
- [252] V. Castelletto, I. W. Hamley, C. Cenker, et al., *J. Phys. Chem. B* **2011**, 115, 2107-2116.
- [253] A. A. Deeg, T. E. Schrader, H. Strzalka, et al., *Spectroscopy* **2012**, 27, 387-391.
- [254] P. Wadhwani, E. Strandberg, N. Heidenreich, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 6512-6515.
- [255] I. W. Hamley, *Chem. Rev.* **2012**, 112, 5147-5192.
- [256] J. C. Rodriguez-Perez, I. W. Hamley, A. M. Squires, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2013**, 15, 13940-13950.
- [257] C. F. Lee, *Phys. Rev. E* **2009**, 80.
- [258] A. Aggeli, N. Boden, Y. L. Cheng, et al., *Biochemistry* **1996**, 35, 16213-16221.
- [259] A. Aggeli, M. L. Bannister, M. Bell, et al., *Biochemistry* **1998**, 37, 8121-8131.
- [260] S. Kyle, A. Aggeli, E. Ingham, et al., *Trends Biotechnol.* **2009**, 27, 423-433.

- [261] A. Kholkin, N. Amdursky, I. Bdikin, et al., *Acs Nano* **2010**, 4, 610-614.
- [262] P. Palladino, V. Castelletto, A. Dehsorkhi, et al., *Langmuir* **2012**, 28, 12209-12215.
- [263] V. Castelletto, I. W. Hamley, C. Whitehouse, et al., *Langmuir* **2013**, 29, 9149-9155.
- [264] J. F. Miravet, B. Escuder, M. D. Segarra-Maset, et al., *Soft Matter* **2013**, 9, 3558-3564.
- [265] A. Dehsorkhi, V. Castelletto, I. W. Hamley, et al., *Soft Matter* **2013**, 9, 6033-6036.
- [266] I. W. Hamley, *Angew. Chem. Int. Edit.* **2007**, 46, 8128-8147.
- [267] M. J. Krysmann, V. Castelletto, A. Kellarakis, et al., *Biochemistry* **2008**, 47, 4597-4605.
- [268] A. Aggeli, M. Bell, L. M. Carrick, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 9619-9628.
- [269] L. Adler-Abramovich, R. Perry, A. Sagi, et al., *Chembiochem* **2007**, 8, 859-862.
- [270] S. Sato, O. Morohara, D. Fujita, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, 132, 3670-3671.
- [271] A. Dehsorkhi, I. W. Hamley, J. Seitsonen, et al., *Langmuir* **2013**, 29, 6665-6672.
- [272] A. Aggeli, M. Bell, N. Boden, et al., *Nature* **1997**, 386, 259-262.
- [273] A. Aggeli, M. Bell, N. Boden, et al., *J. Mater. Chem.* **1997**, 7, 1135-1145.
- [274] R. P. W. Davies, A. Aggeli, *J. Pept. Sci.* **2011**, 17, 107-114.
- [275] S. Maude, D. E. Miles, S. H. Felton, et al., *Soft Matter* **2011**, 7, 8085-8099.
- [276] S. E. Paramonov, H. W. Jun, J. D. Hartgerink, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 7291-7298.
- [277] H. G. Cui, M. J. Webber, S. I. Stupp, *Biopolymers* **2010**, 94, 1-18.
- [278] D. W. P. M. Lowik, J. C. M. van Hest, *Chem. Soc. Rev.* **2004**, 33, 234-245.
- [279] A. Ghosh, M. Haverick, K. Stump, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, 134, 3647-3650.
- [280] Y. C. Yu, P. Berndt, M. Tirrell, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 12515-12520.
- [281] D. A. Middleton, J. Madine, V. Castelletto, et al., *Angew. Chem. Int. Edit.* **2013**, 52, 10537-10540.
- [282] M. M. Joullie, K. M. Lassen, *Arkivoc* **2010**, 189-250.
- [283] A. El-Faham, F. Albericio, *Chem. Rev.* **2011**, 111, 6557-6602.
- [284] S. Han, *Tetrahedron* **2004**, 60, 2447-2467.
- [285] C. A. G. N. Montalbetti, V. Falque, *Tetrahedron* **2005**, 61, 10827-10852.
- [286] W. C. Pomerantz, N. L. Abbott, S. H. Gellman, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, 128, 8730-8731.
- [287] W. C. Pomerantz, V. M. Yuwono, C. L. Pizzey, et al., *Angew. Chem. Int. Edit.* **2008**, 47, 1241-1244.
- [288] H. Schwertfeger, C. Wurtele, H. Hausmann, et al., *Adv. Synth. Catal.* **2009**, 351, 1041-1054.
- [289] E. Atherton, H. Fox, D. Harkiss, et al., *J. Chem. Soc. D* **1978**, 537-539.
- [290] E. Atherton, R. C. Sheppard, *Solid phase peptide synthesis : a practical approach*, IRL Press at Oxford University Press, Oxford, England ; New York, **1989**.
- [291] M. Schinnerl, Justin K. Murray, Joseph M. Langenhan, et al., *Eur. J. Org. Chem.* **2003**, 2003, 721-726.
- [292] H. M. Yu, S. T. Chen, K. T. Wang, *J. Org. Chem.* **1992**, 57, 4781-4784.
- [293] S. Abele, P. Seiler, D. Seebach, *Helv. Chim. Acta* **1999**, 82, 1559-1571.
- [294] W. C. Pomerantz, T. L. R. Grygiel, J. R. Lai, et al., *Org. Lett.* **2008**, 10, 1799-1802.
- [295] J. K. Murray, S. H. Gellman, *Org. Lett.* **2005**, 7, 1517-1520.
- [296] J. K. Murray, B. Farooqi, J. D. Sadowsky, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 13271-13280.
- [297] J. K. Murray, S. H. Gellman, *J. Comb. Chem.* **2006**, 8, 58-65.
- [298] J. K. Murray, S. H. Gellman, *Nat. Protoc.* **2007**, 2, 624-631.
- [299] A. Müller, F. Schumann, M. Kokschi, et al., *Lett. Pept. Sci.* **1997**, 4, 275-281.
- [300] M. M. Müller, M. A. Windsor, W. C. Pomerantz, et al., *Angew. Chem. Int. Edit.* **2009**, 48, 922-925.
- [301] M. Karas, D. Bachmann, U. Bahr, et al., *Int. J. Mass. Spectrom.* **1987**, 78, 53-68.
- [302] M. Gude, J. Ryf, P. D. White, *Lett. Pept. Sci.* **2002**, 9, 203-206.
- [303] A. Berkessel, K. Glaubitz, J. Lex, *Eur. J. Org. Chem.* **2002**, 2002, 2948-2952.

- 
- [304] X. Daura, D. Bakowies, D. Seebach, et al., *Eur. Biophys. J.* **2003**, 32, 661-670.
- [305] T. Takumi, H. Ohkubo, S. Nakanishi, *Science* **1988**, 242, 1042-1045.
- [306] I. W. Hamley, M. J. Krysmann, A. Kelarakis, et al., *Chem. - Eur. J.* **2008**, 14, 11369-11375.
- [307] A. Dehsorkhi, V. Castelletto, I. W. Hamley, *J. Pept. Sci.* **2014**, 453-467.
- [308] V. L. Sedman, X. Chen, S. Allen, et al., *J. Microsc. (Oxford, U. K.)* **2013**, 249, 165-172.
- [309] G. Morelli, A. Accardo, M. T. Vitiello, et al., *Int. J. Nanomed.* **2014**, 2137.
- [310] H. E. Gottlieb, V. Kotlyar, A. Nudelman, *J. Org. Chem.* **1997**, 62, 7512-7515.
- [311] C. Kay, O. E. Lorthioir, N. J. Parr, et al., *Biotechnol. Bioeng.* **2000**, 71, 110-118.
- [312] T. J. de Boer, H. J. Backer, *Org. Synth.* **1954**, 34, 96-100.
- [313] T. J. de Boer, H. J. Backer, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **1954**, 73, 229-234.





---

Witali Blum

Darmstadt, den

Ginnheimer Str. 22

60487 Frankfurt am Main

### **Erklärung**

Ich erkläre hiermit, dass ich meine Dissertation selbstständig und nur mit den angegebenen Hilfsmitteln angefertigt habe.

---

Unterschrift

---



---

Witali Blum

Darmstadt, den

Ginnheimer Str. 22

60487 Frankfurt am Main

### **Erklärung**

Ich erkläre hiermit, noch keinen Promotionsversuch unternommen zu haben.

---

Unterschrift



---

## Persönliche Informationen

---

- Name: Witali Blum
- Geburtsdatum: 14.02.1984
- Staatsangehörigkeit: deutsch
- Anschrift: Ginnheimer Str. 22  
60487 Frankfurt am Main

## Akademischer Werdegang

---

- |                   |  |
|-------------------|--|
| 12/2010 – 05/2015 | <b>TU Darmstadt</b> , Darmstadt<br>Dissertation bei Prof. C. M. Thiele <ul style="list-style-type: none"><li>▪ Entwicklung von <math>\beta</math>-Peptiden und <math>\beta</math>-Strukturbildnern als potenzielle Orientierungsmedien in der kernmagnetischen Resonanzspektroskopie</li></ul> |
| 10/2006 – 08/2010 | <b>Hochschule Mannheim</b> , Mannheim<br>Diplom-Ingenieur Chemische Technik, Note: 1.6 <ul style="list-style-type: none"><li>▪ Entwicklung und Etablierung der Synthese von Tetracosactid</li></ul>  |
| 10/2004 – 10/2006 | <b>Ruprechts-Karl-Universität Heidelberg</b> , Heidelberg<br>Grundstudium Diplom Chemie (ohne Vordiplomprüfung)  |
| 09/1996 – 07/2004 | <b>Friedrich-Ebert-Gymnasium Sandhausen</b> , Sandhausen<br>Abitur, Note: 1.4  |

---

Darmstadt, den

---

